



**UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA**

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA

Desarrollo de un fitofármaco líquido a base de extracto acuoso de semillas de linaza, fruto de pitahaya y hojas de sen con actividad laxante

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
Químico farmacéutico**

AUTOR:

Alexandra Bright Zavaleta Vargas

ASESOR:

Msc. Leon Faustino Villegas Vilchez

LIMA - PERÚ

2025

JURADO CALIFICADOR

PRESIDENTE: DR. CUEVA MESTANZA RUBEN EDUARDO

VOCAL: MG. BRAVO ORELLANA GUSTAVO VLADIMIR

SECRETARIO: MG. ESPINOZA CORDOVA GABY

REPORTE DE TURNITIN

2603970822&ro=103&s=18&lang=es&u=1165482885

1 de 1: Uigict FACI FAVEZ
Desarrollo de un fitofármaco líquido a base de extracto acu...

Similitud **12%** Marcas de alerta



**UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA**

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA

Desarrollo de un fitofármaco líquido a base de extracto acuoso de semillas de linaza, fruto de pitahaya y hojas de sen con actividad laxante

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
Químico farmacéutico

AUTOR:
Alexandra Brigit Zavaleta Vargas

ASESOR:
Msc. Leon Faustino Villegas Vilchez

LIMA - PERÚ

2025

39 palabras 86%

Informe estándar
Informe en inglés no disponible Más información

12% Similitud estándar Filtros

4 Exclusiones →

Fuentes
Mostrar las fuentes solapadas

1 Internet	hdl.handle.net	2%
29 bloques de texto 308 palabra que coinciden		
2 Internet	idoc.pub	<1%
11 bloques de texto 123 palabra que coinciden		
3 Internet	cybertesis.unmsm.edu.pe	<1%
5 bloques de texto 111 palabra que coinciden		
4 Internet	repositorio.utmachala.edu.ec	<1%
7 bloques de texto 68 palabra que coinciden		

DEDICATORIA

A todas aquellas personas que me han ayudado para que esto sea posible, a las bonitas amistades que conocí quiero y admiro mucho. A mis maestros que han sido de gran ayuda en mi formación profesional, pero sobre todo a mis padres y familia que han sido mi más grande inspiración y me han alentado durante todo este tiempo.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Peruana Cayetano Heredia, por brindarme un espacio para ampliar mis conocimientos. A mi asesor MSc. Leon Villegas, ya que ha sido un gran mentor y agradezco mucho su dedicación, orientación y guía durante este tiempo.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1. Antecedentes.....	5
1.2. Bases teóricas: Laxantes.....	8
1.3. Clasificación de los laxantes y algunos ejemplos de extractos vegetales.....	8
1.4. Forma farmacéutica oral.....	10
1.5. Composición del fitomedicamento.....	11
1.5.1. Materia prima vegetal.....	12
1.5.2. Excipientes.....	13
2. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN Y OBJETIVOS.....	13
2.1. Problema de investigación.....	13
2.2. Pregunta de investigación.....	14
2.3. Justificación.....	14
2.4. Objetivos.....	15
2.4.1. Objetivo General.....	15
2.4.2. Objetivos específicos.....	15
3. METODOLOGÍA Y ESTRATEGIA DE INVESTIGACIÓN.....	15
3.1. Investigación por su alcance.....	16
3.2. Diseño de investigación.....	16
3.2.1. Animales de experimentación.....	16
3.2.2. Tamaño de muestra.....	16
3.2.3. Población experimental.....	17
3.2.4. Evaluación.....	18
3.2.5. Lugar de estudio.....	18
3.3. Materiales y equipo.....	20
3.3.1. Material de Laboratorio.....	20
3.3.2. Equipos de laboratorio y de producción.....	20
3.3.3. Materia prima y excipientes.....	20
3.4. Producción del formulado.....	20
3.5. Procedimiento para el análisis de la materia prima.....	23
3.5.1. Identificación botánica.....	23
3.5.2. Determinación de la humedad.....	23

3.5.3. Determinación de la cantidad de sustancias solubles.....	23
3.5.4. Determinación del porcentaje de cenizas totales.....	24
3.6. Procedimiento para el análisis del formulado.....	24
3.6.1. Identificación de metabolitos secundarios por HPLC-MS.....	24
3.6.2. Determinación organoléptica.....	25
3.6.3. Determinación de la densidad relativa.....	26
3.6.4. Determinación del índice de refracción.....	26
3.6.5. Determinación del pH.....	26
3.6.6. Determinación de la cantidad sólidos.....	27
3.6.7. Análisis microbiológico.....	27
3.6.8. Actividad oral tóxica aguda.....	29
3.6.9. Actividad laxante en ratas normales.....	30
3.6.10. Actividad laxante en ratas constipadas con loperamida.....	31
3.7. Análisis estadístico.....	32
4. RESULTADOS.....	32
4.1. Análisis de la materia prima.....	32
4.1.1. Identificación botánica.....	32
4.1.2. Parámetros fisicoquímicos.....	34
4.2. Análisis del formulado.....	35
4.2.1. Identificación de metabolitos secundarios por HPLC-MS.....	35
4.2.2. Determinación organoléptica.....	37
4.2.3. Parámetros fisicoquímicos del formulado.....	37
4.2.4. Análisis microbiológico.....	38
4.2.5. Actividad oral tóxica aguda.....	38
4.2.6. Actividad laxante en ratas normales.....	41
4.2.7. Actividad laxante en ratas constipadas con loperamida.....	43
4.2.8. Análisis estadístico.....	46
5. DISCUSIÓN.....	47
6. CONCLUSIÓN.....	53
7. LIMITACIONES.....	54
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56
9. ANEXOS.....	66

LISTA DE TABLAS

TABLA 1: Lista de componentes para la elaboración del fitofármaco de acción laxante.

TABLA 2: Cuadro de operacionalización de variables.

TABLA 3: Condiciones de análisis de Cromatógrafo UPLC.

TABLA 4: Intervalos microbiológicos sugeridos productos herbales.

TABLA 5: Signos a evaluar en las ratas.

TABLA 6: Clasificación taxonómica de las semillas de Linaza.

TABLA 7: Clasificación taxonómica del fruto de pitahaya.

TABLA 8: Clasificación taxonómica de las hojas de sen

TABLA 9 Parámetros fisicoquímicos de la materia prima

TABLA 10: Características organolépticas del formulado.

TABLA 11: Características fisicoquímicas del formulado.

TABLA 12: Recuento microbiológico y detección de patógenos en el formulado.

TABLA 13: Tratamientos de Experimentación.

TABLA 14: Resultados de la Toxicidad Aguda Oral.

TABLA 15: Resumen de valoración clínica.

TABLA 16: Evaluación macroscópica.

TABLA 17: Tratamientos de experimentación con el formulado.

TABLA 18: Determinación de los valores obtenidos con el formulado.

TABLA 19: Resultados del análisis estadístico.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Flujograma de producción del formulado.

FIGURA 2: Cromatogramas TIC para la muestra analizada.

FIGURA 3: Determinación de la Actividad Laxante del formulado.

FIGURA 4: Dosis versus porcentaje de agua fecal para ratas normales.

FIGURA 5: Determinación de la Actividad Laxante del formulado.

FIGURA 6: Dosis versus porcentaje de agua fecal para ratas constipadas.

FIGURA 7: Gráfico comparativo de los dos modelos animales.

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1: Carta de aprobación del comité de ética.

ANEXO 2: Identificación botánica de la materia prima.

ANEXO 3: Relación de compuestos detectados mediante LC-MS en la muestra del formulado.

ANEXO 4: Resultados del análisis microbiológico del formulado.

ANEXO 5: Resultados de la cuantificación de sólidos totales.

ANEXO 6: Resultados experimentales de la actividad laxante para ratas normales.

ANEXO 7: Resultados experimentales de la actividad laxante para ratas constipadas.

ANEXO 8: Anova de Dosis por grupo en ratas normales.

ANEXO 9: Anova de Dosis por grupo en ratas constipadas.

RESUMEN

El propósito del desarrollo de este fitofármaco con fines laxantes es debido a que el estreñimiento, es el trastorno gastrointestinal con un porcentaje de prevalencia elevado, presentando un problema de alto impacto en el sistema de salud. En la actualidad el manejo del estreñimiento con los fármacos disponibles es costoso y la posibilidad de efectos secundarios es alta. Por lo que aquellos medicamentos derivados de plantas medicinales pueden ser de gran ayuda para la población. Este trabajo de investigación, tuvo como objetivo principal desarrollar un fitofármaco líquido de acción laxante en animales de experimentación, elaborado en base a extracto acuoso de semillas de linaza, fruto de pitahaya y hojas de sen. La metodología empleada tuvo un enfoque cualitativo y cuantitativo dado a los análisis experimentales realizados, como la identificación botánica y de metabolitos secundarios mediante HPLC-MS. Se identificaron 44 componentes por HPLC-MS, siendo los principales antraquinonas, alcaloides, flavonoides, catequinas y sus derivados. La estrategia de investigación por su diseño fue experimental, ya que se sometió la muestra a varios procesos de evaluación de la materia prima y del formulado desarrollado. Para la actividad biológica se emplean 59 ratas, de las cuales 9 se utilizaron para medir la toxicidad aguda y 50 animales para actividad laxante. Los resultados evidencian que el formulado no presenta toxicidad aguda por vía oral ($DL_{50} > 5000$ mg/Kg de peso corporal). Además el formulado presenta actividad laxante en ratas constipadas por vía oral a las dosis ensayadas siendo la dosis 1 (100 mg/Kg) y la dosis 2 (250 mg/Kg). estadísticamente significativo con respecto al control picosulfato de sodio (5 mg/Kg), $p < 0,05$.

PALABRAS CLAVE: Linaza, Sen, Pitahaya, actividad laxante, HPLC

ABSTRACT

The main objective of this research work was to develop a liquid phytopharmaceutical with laxative action in experimental animals, prepared based on aqueous extract of linseed seeds, pitahaya fruit and senna leaves. A qualitative and quantitative methodology was used to carry out experiments, such as identification, botanical analysis and quantification of secondary metabolites. using HPLC-MS. 44 components were identified by HPLC-MS, the main ones being anthraquinones, alkaloids, flavonoids, catechins and their derivatives. The research strategy due to its design was experimental, since the sample was subjected to various evaluation processes of the raw material and the final product. For biological activity, 59 rats were used, of which 9 were used to measure acute toxicity and 50 animals for laxative activity. The results showed that the formulation does not present acute oral toxicity ($LD_{50} > 5000$ mg/Kg body weight). Furthermore, the formulation presents laxative activity in constipated rats orally at the doses tested, being dose 1 (100 mg/Kg) and dose 2 (250 mg/Kg). statistically significant with respect to the sodium picosulfate control (5 mg/Kg), $p < 0.05$.

KEYWORDS: Flaxseed, Senna, Pitahaya, laxative activity, HPLC

1. INTRODUCCIÓN

El estreñimiento es un problema intestinal común con síntomas, que incluyen dificultad o paso poco frecuente de las heces, a menudo, asociado con dolor [1, 2]. Puede responder a un abordaje terapéutico como modificación en la alimentación y modo de vida, se debe considerar que depende mucho del grado de estreñimiento que presenta el paciente, ya que en ocasiones las dietas altas en fibra empeoran los síntomas con estreñimiento crónico [3]. El estreñimiento se diagnostica si las heces blandas rara vez se presentan y se observan algunos de estos síntomas durante al menos tres meses: Evacuación con fuerza, grumos o consistentes, sensación de evacuación incompleta y obstrucción anorrectal o bloqueo de la defecación y necesidad de manipulación manual para favorecer en un 25% o más la defecación [4]. El estreñimiento se clasifica en dos tipos, estreñimiento agudo o transitorio y estreñimiento crónico. En el caso del estreñimiento agudo o transitorio es ocasionado por modificaciones en la dieta, sedentarismo o a consecuencia de alguna enfermedad o por la administración de un fármaco (opioides, antihipertensivos, antidepresivos, anticonvulsivantes, suplementos de hierro o calcio) [5]. Por su parte el estreñimiento crónico presenta una duración mayor a 3 meses y puede subclasificarse en dos tipos, en estreñimiento funcional primario o secundario.

El estreñimiento funcional o primario se presenta a consecuencia de un déficit de fibra, malos hábitos dietéticos, modificación de motilidad del colon, mala posición del ano al defecar [3,5,6]. Por otro lado, el estreñimiento funcional secundario es ocasionado por enfermedades metabólicas (diabetes mellitus, hipotiroismo, intoxicación por metales pesados, entre otros), enfermedades neurológicas (enfermedad vascular cerebral, esclerosis múltiple, lesiones en la médula espinal, trastornos en la alimentación, depresión), enfermedades del colon (neoplasias malignas, hemorroides, proctitis, postradiación) y tratamientos farmacológicos prolongados. El estreñimiento también está asociado al uso de fármacos que tienen efecto anticolinérgico, antidepresivo, antagonistas del calcio, con compuestos de aluminio, hierro, clonidina, esto debido a que estos medicamentos reducen la contractilidad del músculo liso [3,5,6,7].

Durante el consenso Latinoamericano acerca del Estreñimiento realizado en el año 2008, se concluyó que la prevalencia estimada del estreñimiento osciló entre un 5 y 21 %, en la región, teniendo al grupo femenino en comparación con los varones como el más prevalente, encontrando una relación (3:1) respectivamente. Otro estudio reciente realizado por García y Rennes en el año 2021 menciona que la prevalencia del estreñimiento de la población es del 16% al 33,5% en adultos mayores [39] y en un estudio epidemiológico global que abarca 33 países de seis continentes realizado por Sperber en el año 2021, posiciona al estreñimiento como el trastorno funcional digestivo más frente a nivel mundial [40]. De los sujetos evaluados con esta afección, el 75 % refiere que ingiere algún tipo de medicina, mientras que la mitad de los sujetos prefiere el medicamento casero. Con respecto al impacto económico se redacta que únicamente el 30 % de los sujetos afectados acude a consulta médica. El consumo de laxantes es relevante en nuestra población, y se debe tener en consideración la utilización de medicina, tratamiento y el consumo de medicinas es significativo [8]. Actualmente existe una amplia gama de laxantes. Sin embargo, los pacientes que toman medicamentos laxantes no se encuentran satisfechos con los resultados, por lo que es crucial el desarrollo de nuevos laxantes para sujetos con esta afección [9]. Además, los profesionales de salud no están satisfechos con las medidas terapéuticas disponibles para el manejo del estreñimiento y mencionan que de los pacientes que ya toman medicamentos, el 71% no son efectivos o el 74 % agravan los síntomas. Por lo cuál los profesionales de salud consideran que necesitan nuevas alternativas de tratamiento [8].

En los indicios encontrados se evidencia que el estreñimiento es debido a una morbilidad asociada, y no una enfermedad por sí misma [4]. Frente a esta necesidad se está realizando este estudio con la finalidad de probar la actividad laxante del extracto acuoso a base de semillas de linaza, fruto de pitahaya y hojas de sen.

El propósito del desarrollo de este fitofármaco con fines laxantes es debido a que el estreñimiento, es el trastorno gastrointestinal con un porcentaje de prevalencia elevado [9], presentando un problema de alto impacto en el sistema de salud [3,10,11]. Actualmente el manejo del estreñimiento con los fármacos disponibles (como: Bisacodilo, psyllium, hidróxido de magnesio, sorbitol, polietilenglicol, entre otros) es costoso y se ha encontrado

que producen efectos secundarios no deseados tales como acidosis metabólica, deshidratación, desequilibrios electrolíticos como hiponatremia, hipocalcemia, tetania, sensación de quemazón en el recto (cuando hay administración rectal), entre otros [12-15]. La organización mundial de la Salud (OMS), evaluó que alrededor del 80% de la población sigue empleando medicina tradicional y ha reportado una creciente demanda en la comercialización de medicina tradicional que comprende el uso de plantas o sus derivados de los principios activos, siendo de gran ayuda para la población, ya que se menciona además que produce efectos terapéuticos con efectos secundarios mínimos y sin actividad tóxica aguda [16,17]. El recurso vegetal y los productos naturales atraen mucha atención para el desarrollo de medicamentos laxantes, dado a su efectividad y seguridad [9]. Frente a esta necesidad se realizará este estudio que se va evaluar la actividad laxante del formulado a base de extracto acuoso de semillas de linaza, fruto de pitahaya y hojas de sen. Los resultados hallados pueden ser de gran ayuda para futuras investigaciones y servir de evidencia científica para los próximos formulados.

1.1. Antecedentes

En el año 2018 Jang S, Yang D: realizaron un trabajo de investigación denominado: “The combination of *Cassia obtusifolia* L. and *Foeniculum vulgare* M. exhibits a laxative effect on loperamide-induced constipation of rats”. Teniendo como objetivo evaluar la actividad laxante mediante la administración por sonda oral una vez al día durante cuatro semanas a concentraciones diferentes de 100, 300 y 500 mg/Kg del formulado. Por lo cual emplearon 60 ratas, seleccionadas de forma aleatoria y dividiéndolas en grupo de 6 cada uno (n=10). Los cuatro primeros grupos fueron inducidos con estreñimiento por loperamida 2 mg/Kg y se les dió dosis en concentraciones diferentes del extracto de 100, 300 y 500 mg/Kg. El último grupo únicamente es el control positivo. Al quinto grupo se le dosificó bisacodilo 3,3 mg/Kg. Encontrando hallazgos que indican que el tratamiento con una mezcla de *Cassia obtusifolia* (sen) y *Foeniculum vulgare* puede tener potencial laxante contra el estreñimiento mediante la mejora de la actividad motora del colon, la excreción de heces y la liberación de líquidos en el intestino. Además, se tiene conocimiento que en las dosis planteadas no presenta toxicidad. Los principales componentes activos del sen son las antraquinonas, naftopironas y lactonas [18]. Asimismo el año 2013, Peeranuch M, Kant W, Wandee G & Wit

V. Realizaron un trabajo denominado "Laxative effectiveness of *Cassia Angustifolia* in Thai constipated patients"[19]. Teniendo como objetivo evaluar el efecto laxante del sen, para ello se reclutaron 36 pacientes de acuerdo a los criterios de elegibilidad del estudio clínico y a todos los pacientes se les asignó un tratamiento de cinco días con comprimidos de 15 mg del sen. Posteriormente los pacientes de investigación fueron sometidos a un informe de autoevaluación en una tabla fecal diaria durante 5 días. A partir de los resultados se confirmó la eficiencia de la actividad laxante de *C. Angustifolia*. Se sabe que los principales componentes activos son las antraquinonas, naftopironas y lactonas [19].

En el año 2011, Parra Y. Pública acerca del tamizaje fitoquímico y determinación de la actividad laxante de tallos y semilla de pitahaya (*Hylocereus undatus*) [12]. Donde realiza el tamizaje fitoquímico y determina la actividad laxante de pitahaya. Para lo cual emplearon 36 ratas Wistar albinas, seleccionados de forma aleatoria y dividiéndolos en 6 grupos conformados por 6 ratones cada uno (n=6). Recibiendo dosis de 250 mg/Kg en concentraciones de 10, 30, 40 y 96 % del extracto acuoso. Concluyendo que la actividad laxante de las semillas se debe a que poseen buena cantidad de mucílagos, compuestos grasos y fibra insoluble, lo que favorece el tránsito gastrointestinal. Por lo que se los puede emplear para obtener un efecto depurativo sin llevar a la persona a emisiones líquidas y por ende a la deshidratación [12].

Otro estudio realizado en el año 2012 por Hor S, denominado como "Safety assessment of methanol extract of red dragon fruit *Hylocereus polythizus*: Acute and subchronic toxicity studies" [20], tuvo como objetivo evaluar la toxicidad potencial de un extracto metanólico del fruto de pitahaya después de la administración aguda y subcrónica en ratas. Para la evaluación de la toxicidad oral aguda, se administraron dosis únicas de extracto de fruta (1250, 2500 y 5000 mg/kg) a ratas mediante sonda oral y luego se monitoreó a las ratas durante 14 días. En el caso de la toxicidad oral subcrónica del extracto de fruta de pitahaya se administra en dosis de 1250, 2500 y 5000 mg/kg/día durante 28 días.

Los resultados arrojados para la toxicidad aguda o subcrónica en ratas de ambos géneros evidencia no existe mortalidad, ni anomalías de los órganos internos entre los grupos de tratamiento y control, y se determinó que el extracto oral letal de pitaya era superior a 5000 mg/kg [20].

Finalmente otro estudio realizado en el año 2018 Jauregui K, Leon M. y Ácaro F: realizaron un trabajo de investigación llamado: “Efecto laxante del extracto hidroalcohólico del exocarpo del fruto de *Hylocereus megalanthus* (pitahaya) en ratones albinos”[21], realizándose en Lima, Perú. Se evaluó el efecto laxante del extracto. Para lo cual emplearon 20 ratones albinos, seleccionados de forma aleatoria y dividiéndolos en 5 grupos conformados por 4 ratones cada uno (n=4). A todos los cinco grupos se les administró 1mL de extracto hidroalcohólico. El primer grupo fue utilizando los 4 ratones para la dosis de 25%, el segundo grupo para el 50%, el tercer grupo para el 75%, el cuarto grupo para el control positivo con infusión de CIRUELAX y quinto grupo sin tratamiento (control negativo). Se comprobó que hay mayor efecto laxante del extracto hidroalcohólico del exocarpo del fruto de *Hylocereus megalanthus* (Pitahaya) en ratones albinos en concentraciones de 50% y 75% en comparación con el control positivo (CIRUELAX TÉ). Y en cuanto al tamizaje fitoquímico del extracto evidencia metabolitos activos como los glicósidos, antraquinonas, taninos y mucílagos [21].

En el año 2014, Zhañay A. Publica el artículo “Evaluación farmacognóstica y preclínica de la actividad laxante en la *linum usitatissimum* semilla de linaza”. Dónde se evaluó la actividad laxante en las semillas de linaza Para lo cual se utilizaron 10 ratas albinas Wistar (Hembras), a los grupos se los dividió de la siguiente manera: El primero es sin tratamiento, al grupo dos se le dosifica por vía oral leche de magnesia y al tercer grupo 1.6 mL por 160 g del peso del animal el extracto de la semilla de linaza. En el Tamizaje fitoquímico se presentaron Mucílagos principalmente. Concluyeron que el extracto en la dosis evaluadas presenta menor actividad laxante, en comparación con la leche de magnesia [22]. Sin embargo en el año 2021, Mohanta Bulu, realizó un trabajo de investigación denominado como “*In vivo* acute toxicity, antidiabetic and antiulcer activities of polysaccharide from *Linum usitatissimum* L. seeds [74]” donde se administra a una dosis individual de polisacáridos de linaza de 50 mg/Kg, 300 mg/Kg y 2000 mg/Kg. Concluyendo que es un material seguro para la ingestión por vía oral, dado a que no se detectaron cambios significativos en el peso corporal del animal durante las 24 horas de duración de la investigación de toxicidad aguda. Todos estos estudios nos ayudan a demostrar que la dosis es directamente proporcional a la actividad laxante [74].

1.2. Bases teóricas: Laxantes

Los laxantes son considerados un pilar fundamental en el tratamiento farmacológico a pacientes que no responden ante la modificación del estilo de vida o dieta. En la actualidad el manejo del estreñimiento con los fármacos disponibles (como: Bisacodilo, psyllium, hidróxido de magnesio, sorbitol, polietilenglicol, entre otros) es costoso y se ha encontrado que producen efectos secundarios no deseados tales como acidosis metabólica, deshidratación, desequilibrios electrolíticos como hiponatremia, hipocalcemia, tetania, sensación de quemazón en el recto (cuando hay administración rectal), entre otros [12-15]. Además, diversos estudios han demostrado que los laxantes naturales, debido a su alto contenido de fibra, aumenta la frecuencia de evacuación intestinal, en comparación con los laxantes farmacéuticos [3]. Sin embargo, es importante hacer hincapié, que no es apto para todas las edades, ya que las intoxicaciones a causa de medicina herbaria afecta principalmente a niños hasta los cinco años, siendo el grupo más delicado [10,13]. Por su parte en la población adulta, los efectos colaterales fueron moderados o leves, ya que algunos de los síntomas incluyen cólicos abdominales, vómitos y diarrea [13].

Estudios previos han demostrado que la medicina complementaria que emplea mezcla de hierbas tiene mejores efectos laxantes en comparación a las medicinas a base de una sola hierba [7,23]. Además, los laxantes naturales se clasifican en diferentes grupos según su mecanismo de acción, estos son laxantes de tipo: Estimulantes, formadores de masa, lubricantes y osmóticos.

1.3. Clasificación de los laxantes y algunos ejemplos de extractos vegetales.

Los laxantes se clasifican en laxantes formadores de masa, de tipo estimulante, osmótico y lubricante. A continuación se detallan algunos ejemplos y además se detallan algunos ejemplos de laxantes naturales.

Los laxantes formadores de masa son aquellos que aumenta el volumen del bolo fecal, estimulando la actividad motora del colon, este tipo de laxantes se engloba dentro del grupo denominado fibra dietética [23-25], a su vez, se puede subclasificar en fibra insoluble y soluble. La fibra insoluble constituida por celulosa presenta resistencia a la hidratación e

hinchamiento [23,25]. Por otro lado, la fibra soluble es constituida por gomas y mucílagos, presentan buena capacidad de hidratación e hinchamiento [23,25]. Dentro de este grupo tenemos algunas plantas como el lino (*Linum usitatissimum Linnaeus*) y el Ispaghul (*Plantago ovata Forsk*) que actúan como fibra soluble y gracias a que poseen buena cantidad de mucílagos ayuda al peristaltismo, regularizando de esta manera el tránsito intestinal [26].

Los laxantes estimulantes actúan como profármacos, es decir, son inactivos, pero posterior a la administración liberan aglicones (antraquinonas, diantronas), que son la forma activa. El efecto laxante presenta un periodo de latencia de 6 -12 horas, tiempo necesario para que los heterósidos hidroxiantraceno que no fueron absorbidos en el tracto digestivo, alcancen el colon y se liberan por acción de enzimas de la microbiota intestinal activando la actividad motora [23-26]. Como lo es en el caso de algunas plantas como el sen (*Cassia angustifolia Vahl*) y la cáscara sagrada (*Rhamnus purshiana Candolle*), ambas estimulan la motilidad intestinal debido a que inhiben la absorción de electrolitos y agua, facilitando la evacuación de las heces [21].

Los laxantes osmóticos son derivados de azúcar (polialcoholes o sales), producen atracción del agua a la luz intestinal, aumentando la capacidad de evacuación, ya que facilita el reblandecimiento a través de la hidratación de las heces [23,27]. Como en el caso de la planta *Grewia ferruginea Hochst*, *Peumus boldus Molina* (boldo), *Taraxacum dens leonis Dest* (Diente de león) que actúan como consecuencia del incremento de secreción de bilis al tracto digestivo, produciendo un efecto laxante y diurético [26, 4].

Los laxantes lubricantes como su nombre lo indica lubrican la masa fecal, facilitando su paso a través del intestino. Dentro de este grupo resultan los aceites naturales [23]. En este grupo tenemos por ejemplo al *Ricinus communis* (aceite de ricino), ya que acelera el movimiento de la materia fecal dentro del intestino [28].

Los laxantes más utilizados son los formadores de masa para el estreñimiento crónico y los estimulantes son empleados para el estreñimiento agudo, debido a su eficacia aumentando la motilidad intestinal [23,24].

1.4. Forma farmacéutica oral

Facilita la absorción del principio activo y de acuerdo con la vía de administración puede ser oral y tratarse de un jarabe o suspensión [29]. Caracterizada por la vía de administración más común gracias a la gran superficie de absorción y vascularización en el intestino delgado. Además, se sabe que la absorción es modificada debido a factores como: presencias de alimentos, motilidad, pH y jugos digestivos [29]. Los jarabes son caracterizados por tener consistencia viscosa y además son aquellas soluciones que presentan concentraciones elevadas de azúcares [29,30]. Es por ello, que también presenta otros componentes como polialcoholes (sorbitol o glicerina), para evadir la cristalización y modificar la solubilidad. También presenta conservantes que inhiben el crecimiento de microorganismos [30]. Considerando a los pacientes diabéticos, se ha optado por el empleo de edulcorantes sintéticos (también se ha reemplazado la sacarosa), además la formulación requiere el empleo de agentes viscosantes que mejoran las características del preparado o formulado [30].

En cuanto a las ventajas, se puede lograr que la forma farmacéutica obtenga adecuadas propiedades organolépticas, debido a que posee los recursos suficientes para enmascarar los sabores y olores. Esto junto a la facilidad de deglución, hace que sean más aceptadas por los consumidores, ya que es de fácil ajuste en la dosificación, es decir, adecuar la dosis al peso o la edad, es más sencillo. Además, es de fácil absorción debido a que no requiere de la liberación de una forma farmacéutica, esto hará que su paso por el tracto gastrointestinal sea en un tiempo más corto y tenga una menor posibilidad de causar irritación. Por otro lado, el desarrollo de elaboración es más complejo, ya que presenta una menor estabilidad de componentes, esto debido a que el estado líquido favorece a las reacciones de degradación y el riesgo de proliferación bacteriana, es mayor, gracias a la presencia de disolventes acuosos. Si al disolver la sacarosa se hace uso del agua purificada, se denomina jarabe simple, pero cuando al añadir, uno o más sustancias medicinales, se denomina jarabe medicinal [29,30].

Los factores ambientales son los causantes en la alteración del producto, estas variables pueden ser por humedad, luz, pH, solubilidad o temperatura [30]. Además el producto se puede ver afectado con respecto a la composición y formulación, y con respecto al almacenamiento, transporte y manipulación. Con respecto a la composición y formulación puede presentarse por incompatibilidad en relación entre los principios activos y excipientes, oxidantes y reductores o ácidos y bases. También por el modus operandi, debido a la mala práctica en las operaciones a realizar, como homogeneizar, esterilizar, entre otras. En relación a la uniformidad, se puede dar a consecuencia de alteraciones fisicoquímicas, biodisponibilidad o velocidad de disolución. Por la forma farmacéutica, dado a la degradación por alguna reacción química. A causa de la degradación por oxidación, reducción o cambios de pH. O por el envase, ya que quizás no tenga protección fotosensible. Con respecto al almacenamiento, transporte y manipulación puede darse por humedad, ya que puede dar lugar a reacciones químicas y crecimiento microbiano. Por la variación en la temperatura, ya que puede acelerar la degradación y a consecuencia cambios fisicoquímicos del producto.

Debido a reacciones de fotólisis: También se presentan casos por radiación, ya que puede ocurrir una ruptura en el sistema físico del principio activo, ocasionando cambios en la biodisponibilidad. O hasta incluso por el oxígeno, debido a que puede dar lugar a reacciones de oxidación y formación de radicales libres [30].

1.5. Composición del fitomedicamento

Se debe tener en cuenta que el producto desarrollado está hecho a partir de varias plantas con interés medicinal, mismas que ejercerán el rol de principio activo.

TABLA 1: Lista de componentes para la elaboración del fitofármaco de acción laxante.

COMPOSICIÓN DEL FITOFÁRMACO	
PRINCIPIO ACTIVO (Se adicionan bajo la forma de extracto acuoso)	Semillas de linaza (<i>Linum usitatissimum</i>)
	Fruto de pitahaya (<i>Hylocereus undatus</i>)
	Hojas de sen (<i>Cassia angustifolia</i>)
EXCIPIENTES	Agua purificada
	Sucralosa
	Benzoato de sodio
	Goma Xanthan

1.5.1. Materia prima vegetal

Las semilla de linaza (*Linum usitatissimum*), o comúnmente conocida como lino o linera [22], se presenta en forma ovalada de color café. En su composición química presenta proteínas (albúmina), grasas (ácidos grasos saturados como el esteárico y el palmítico, ácido grasos insaturados como linoleico), fibra (mucílagos se clasifican en la arabinosilano muy ramificada, y una ácida, compuesta por L-ramnosa y D-galactosa, las cuales son el principal principio activo), carbohidratos (glucósido cianogénicos como linustatina, neolinustatina, linamarina y lotaustralina), además entre los principales metabolitos secundarios se encuentra el Lignan (secoisolariciresinol-diglucósido) y el derivado del feniproano (linusitamarina) [31,32]. También presentan ácido acético, fosfato de potasio y calcio y clorhidrato de potasa [22]. Las semillas gracias a su composición química presentan un efecto laxante y emoliente (fibra insoluble y el aceite graso), además de ello, también presenta un efecto antiinflamatorio (ácido eicosapentanoico inhibe a los neutrófilos y el ácido linolénico, disminuye la síntesis de ácido araquidónico), cardioprotector (ácidos grasos insaturados, que bajan azúcar y colesterol en sangre) y antitumoral (lignanos que tienen propiedades antimicóticas, antiestrogénicas y antioxidantes) [22,31,32].

El fruto de pitahaya (*Hylocereus undatus*), o también denominado como fruto del dragón [33], posee la pulpa consistente y espumosa de coloración blanca y blanca rojiza, con pequeñas y suaves pepas [34]. En su composición química contiene carbohidratos (en los que destaca los oligosacaridos que serán el principal principio activo), grasas y proteínas [34]. Además, también contiene oxalatos de calcio, vitamina C, sodio, magnesio, ácido cítrico y ácido láctico y entre los metabolitos secundarios encontramos flavonoides (kaempferol, quercetina, isoramnetina) y antocianinas [33-35]. Dentro de sus componentes, destaca la vitamina C, que ayuda en la producción de colágeno, huesos y eritrocitos. También ayuda en la absorción de hierro y posee un efecto antioxidante. Por su parte, en las semillas, el aceite tiene un efecto hipocolesterolémico y laxante, debido a que reduce el nivel de colesterol en el torrente sanguíneo [33-35].

Las hojas de sen (*Cassia angustifolia*) o comúnmente conocida como Senna, son hojas color verde, de forma ovalada y lisas [36]. En la composición química presenta antraquinona (principio activo), bi-antraquinona y senósidos [37]. Posee un efecto laxante, debido a las sustancias químicas conocidas como senósidos [36,37]. El compuesto mejor caracterizado y encargados de la actividad laxante es el O-glucósido de diantrona, presente principalmente en las hojas es el principio activo [38].

1.5.2. Excipientes

Son sustancias inertes que sirven para la elaboración, la adecuada administración y asimilación del producto. Para el desarrollo del fitomedicamento, se utilizará, el conservante benzoato de sodio, que es uno de los principales excipientes a usar, pues se incorpora a la fórmula con el fin de evitar la proliferación microbiana dentro del producto. Finalmente, goma Xanthan como viscosante.

2. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN Y OBJETIVOS

2.1. Problema de investigación

Durante el consenso Latinoamericano acerca del Estreñimiento realizado en el año 2008, se concluyó que la prevalencia estimada del estreñimiento osciló entre un 5 y 21 %, en la región, teniendo al grupo femenino en comparación con los varones como el más

prevalente, encontrando una relación (3:1) respectivamente. Otro estudio reciente realizado por García y Rennes en el año 2021 menciona que la prevalencia del estreñimiento de la población es del 16% al 33,5% en adultos mayores [39] y en un estudio epidemiológico global que abarca 33 países de seis continentes realizado por Sperber en el año 2021, posiciona al estreñimiento como el trastorno funcional digestivo más frente a nivel mundial [40]. De los sujetos evaluados con esta afección, el 75 % refiere que ingiere algún tipo de medicina, mientras que la mitad de los sujetos prefiere el medicamento casero. Con respecto al impacto económico se redacta que únicamente el 30 % de los sujetos afectados acude a consulta médica. El consumo de laxantes es relevante en nuestra población, y se debe tener en consideración la utilización de medicina, tratamiento y el consumo de medicinas es significativo [8]. Actualmente existe una amplia gama de laxantes. Sin embargo, los pacientes que toman medicamentos laxantes no se encuentran satisfechos con los resultados, por lo que es crucial el desarrollo de nuevos laxantes para sujetos con esta afección [9]. Además, los profesionales de salud no están satisfechos con las medidas terapéuticas disponibles para el manejo del estreñimiento y mencionan que de los pacientes que ya toman medicamentos, el 71% no son efectivos o el 74 % agravan los síntomas. Por lo cual los profesionales de salud consideran que necesitan nuevas alternativas de tratamiento [8].

2.2. Pregunta de investigación

¿Es significativo el efecto laxante de la formulación de tres principios activos (extractos acuoso) de origen natural, considerando sus propiedades combinadas en un sólo producto en comparación con el efecto producido por el picosulfato de sodio?

2.3. Justificación

El propósito del desarrollo de este fitofármaco con fines laxantes es debido a que el estreñimiento, es el trastorno gastrointestinal con un porcentaje de prevalencia elevado [9], presentando un problema de alto impacto en el sistema de salud [3,10,11]. Actualmente el manejo del estreñimiento con los fármacos disponibles (como: Bisacodilo, psyllium, hidróxido de magnesio, sorbitol, polietilenglicol, entre otros) es costoso y se ha encontrado que producen efectos secundarios no deseados tales como acidosis metabólica,

deshidratación, desequilibrios electrolíticos como hiponatremia, hipocalcemia, tetania, sensación de quemazón en el recto (cuando hay administración rectal), entre otros [12,17,14,15]. La organización mundial de la Salud (OMS), evaluó que alrededor del 80% de la población sigue empleando medicina complementaria y ha reportado una creciente demanda en su comercialización, siendo de gran ayuda para la población, ya que se menciona además que produce efectos terapéuticos con efectos secundarios mínimos y sin actividad tóxica aguda [16,17]. Los recursos vegetales y los productos naturales atraen mucha atención para el desarrollo de medicamentos laxantes, dado a su efectividad y seguridad [9]. Frente a esta necesidad se realizará este estudio que se va a evaluar la actividad laxante del formulado a base de extracto acuoso de semillas de linaza, fruto de pitahaya y hojas de sen. Los resultados hallados pueden ser de gran ayuda para futuras investigaciones y servir de evidencia científica para los próximos formulados.

2.4. Objetivos

2.4.1. Objetivo General

- Desarrollar un fitofármaco líquido de acción laxante, elaborado en base a extracto acuoso de semillas de linaza, fruto de pitahaya y hojas de sen.

2.4.2. Objetivos específicos

- Identificar y describir botánicamente la materia prima utilizada
- Determinar las características fisicoquímicas de la materia prima vegetal utilizada
- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el fitofármaco desarrollado, utilizando HPLC-MS
- Determinar las características organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas (recuento microbiano) del fitofármaco líquido desarrollado.
- Determinar la actividad tóxica aguda y actividad laxante en ratas del fitofármaco desarrollado.

3. METODOLOGÍA Y ESTRATEGIA DE INVESTIGACIÓN

La modalidad de investigación fue cualitativa, debido a que se va a determinar las características etnobotánicas, organolépticas, macromorfológicas y sus principales metabolitos secundarios, utilizando HPLC-MS. Fue cuantitativa, ya que se realizó un análisis fisicoquímico y microbiológico.

La estrategia de investigación se dividió en investigación por su alcance y por diseño. Su diseño fue experimental, ya que se sometió la muestra a varios procesos de evaluación de la materia prima y del producto desarrollado.

3.1. Investigación por su alcance

Fue exploratoria, porque se familiariza con los principales metabolitos secundarios del producto terminado. Descriptiva debido a la identificación de los metabolitos secundarios y las características fisicoquímicas del fitofármaco líquido. Y explicativa, puesto que conforme cumple con los criterios de calidad establecidos se brindará a la sociedad una nueva forma farmacéutica líquida natural que sea un coadyuvante en el tratamiento del estreñimiento.

3.2. Diseño de investigación

El trabajo de indagación fue realizado después de haber sido admitido por el Comité de Ética el 22 de febrero del presente año, siendo el proyecto SIDISI número 211252 (Anexo 1).

3.2.1. Animales de experimentación

Se emplearon 59 ratas machos de la cepa Sprague Dawley de 2 meses de edad, con un peso corporal entre 200-240 g, las cuales se distribuyeron en 9 ratas para el ensayo de la toxicidad aguda vía oral y 50 para el estudio de la actividad laxante. Los animales de experimentación fueron adquiridos del bioterio del LID de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

3.2.2. Tamaño de muestra

El número de ratas para la evaluación de la actividad laxante fue calculado mediante la siguiente fórmula [41].

$$n = \frac{N \times Z^2 \times p \times q}{C^2 \times (N-1) + Z^2 \times p \times q}$$

Donde:

- n = Al número de muestra buscado
- N= Tamaño de la población
- Z= Parámetro estadístico en base al nivel de confianza (Z =1.96)
- p = Probabilidad que ocurra el evento
- q = Probabilidad que el evento no ocurra

- C= Error de estimación máximo aceptado

El tamaño de muestra se estimó considerando un nivel de confianza de 1.96 con una prevalencia esperada del 50 % ($p=0.5$), por lo tanto $q=(1-p)=0.5$ y con un posible margen de error del 4% (determinado por el responsable de estudio).

$$n = \frac{55 \times (1.96)^2 \times 0.5 \times (1-0.5)}{(0.04)^2 \times (55-1) + (1.96)^2 \times 0.5 \times (1-0.5)}$$

El resultado por fórmula fue de 50.46 muestras de ratas, con un redondeo de 50 ratas empleadas en el presente trabajo de investigación, mismas que son distribuidas en grupos de cinco animales..

3.2.3. Población experimental

El presente trabajo de investigación utilizó el modelo experimental basado en el protocolo descrito por Tessema MY & Wubneh ZB [4].

Población: 59 ratas macho de la cepa Wistar de 8-10 semanas de edad con un peso promedio de 240 - 260 g, provenientes de las instalaciones del bioterio de los Laboratorios de Investigación y Desarrollo de la Facultad de Ciencias e Ingeniería de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Los animales fueron separados en 2 grupos, de la siguiente manera:

- Muestra para la actividad laxante sin loperamida: 25 ratas divididas en 5 grupos conformados por 5 animales.
- Muestra para la actividad laxante con loperamida: 25 ratas divididas en 5 grupos conformado por 5 animales.

La prueba fue realizada en el ambiente de experimentación del Área de Modelos Biológicos y Toxicológicos del laboratorio de Servicio de Control de Calidad-LID provista de sistema de ventilación. El ambiente tuvo un periodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, con temperatura = $23 \pm 2^\circ\text{C}$ y humedad relativa $\leq 70\%$; para su alojamiento se utilizarán jaulas de polipropileno y se colocaron en grupos de 5 ratas por cada jaula para la mayor comodidad y manejo adecuado hasta la ejecución de la prueba. Tuvieron agua *ad libitum* y

alimento balanceado en pellets para roedores proveniente de la Universidad Agraria de la Molina.

3.2.4. Evaluación

Para la evaluación del efecto del formulado se consideró tres variables: el peso del animal para medir la toxicidad, el peso y el porcentaje de agua en las heces, la cual mide la actividad laxante.

3.2.5. Lugar de estudio

Se realizó en dos lugares diferentes. Para el análisis de la materia prima vegetal y la acción del fitomedicamento, fue en el laboratorio de Servicio de Control de Calidad del LID de la Universidad Peruana Cayetano Heredia y para el desarrollo y análisis del fitofármaco terminado se realizó en el laboratorio Megaecuafarma natural, en la ciudad de Machachi en Ecuador.

3.2.6. Manejo de residuos

El proceso de eliminación de los residuos biológicos se realizó siguiendo lo establecido en la “Norma técnica de salud: Gestión integral y manejo de residuos sólidos en establecimientos de salud, servicios médicos de apoyo y centros de investigación” [34]. De acuerdo a lo establecido por la norma, se clasifican los residuos en: Residuos Biocontaminados, residuos comunes y residuos especiales. Los Residuos Biocontaminados son muestras biológicas, guantes de látex, gasas, lancetas, animales de laboratorio, entre otros. Los Residuos comunes son aquellos que no han estado en contacto con el individuo afectado, como el papel, cartón, frascos, toallas, bolsas, entre otros. Los residuos especiales son frascos de tinciones, reactivos, medios de cultivo, entre otros [42]. Todo material empleado fue descartado en su respectiva bolsa o contenedor con la codificación correspondiente, siguiendo lo establecido por los procedimientos descritos por el SSOMA-LID de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

3.2.7. Variables y Operacionalización de variable

TABLA 2: Cuadro de operacionalización de variables.

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES						
VARIABLE INDEPENDIENTE: Extracto acuoso (Ec) de semillas de linaza, fruto de pitahaya y hojas de sen						
Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala de medición	Criterios de medición
Extracto acuoso del formulado	Extracto acuoso de semillas de linaza, fruto de pitahaya y hojas de sen	Concentración y dosis de administración.	Concentración del formulado administrado a los animales de experimentación para la actividad tóxica aguda y laxante	Administración vía oral a partir del formulado	Numérico	Toxicidades aguda: 2000 y 5000 mg/kg de rata
						Actividad laxante: 100, 250, 500 mg/kg de rata
VARIABLE DEPENDIENTE: Efecto de la actividad de toxicidad aguda y laxante						
Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala de medición	Criterios de medición
Efecto de toxicidad aguda	Toxicidad producida por el formulado	Registro de peso de las ratas para cálculo de las dosis.	Características de las ratas	Peso de las ratas	Numérico	Registro del peso de las ratas
			Características de las ratas	Mortalidad de las ratas	Numérico	Registro de número de animales muertos
Efecto laxante	Aceleran la evacuación de las heces y mejoran el tránsito intestinal.	Registro de peso de las ratas para cálculo de la actividad laxante.	Características de las ratas	Peso de las ratas	Numérico	Registro del peso de las ratas
			Características de las heces	Peso de las heces	Numérico	Registro del peso de las heces

3.3. Materiales y equipo

3.3.1. Material de Laboratorio

Vasos de precipitación de 25, 50, 100 mL, pipetas y buretas de 1, 5, 10 mL, lunas de reloj, caja petri, varillas de vidrio, tubos de ensayo, matraz erlenmeyer, embudo de separación de 100 mL, picnómetro, láminas porta y cubreobjetos, balón de aforación, campana desecadora, crisol, mortero de porcelana, mechero de Bunsen, trípode, gradilla, pinzas metálicas, pesetas y papel filtro libre de ceniza y frasco ámbar de vidrio de 500 mL.

3.3.2. Equipos de laboratorio y de producción

Equipos de laboratorio: Balanza analítica (poner marca), mufla, refrigeradora, cocina eléctrica, pH-metro, refractómetro y cromatógrafo para HPLC-MS, incubadora, entre otros.

Equipos de producción: Marmita con reactor de 100 L (ICOS PTFM.IE 100), envasadora de líquidos (MIP-DSM100), licuadora industrial (R-LFVR) y malla de acero inoxidable.

3.3.3. Materia prima y excipientes

Muestras adquiridas de: Semillas de linaza, fruto de pitahaya, hojas de sen, fueron enviadas al laboratorio de bromatología de la Universidad Central del Ecuador para el análisis correspondiente.

Los excipiente fueron de grado farmacéutico, se utilizó Sucralosa (Kumbo, China), Benzoato de sodio (Teglod, China) y Goma xanthan (Henan, China).

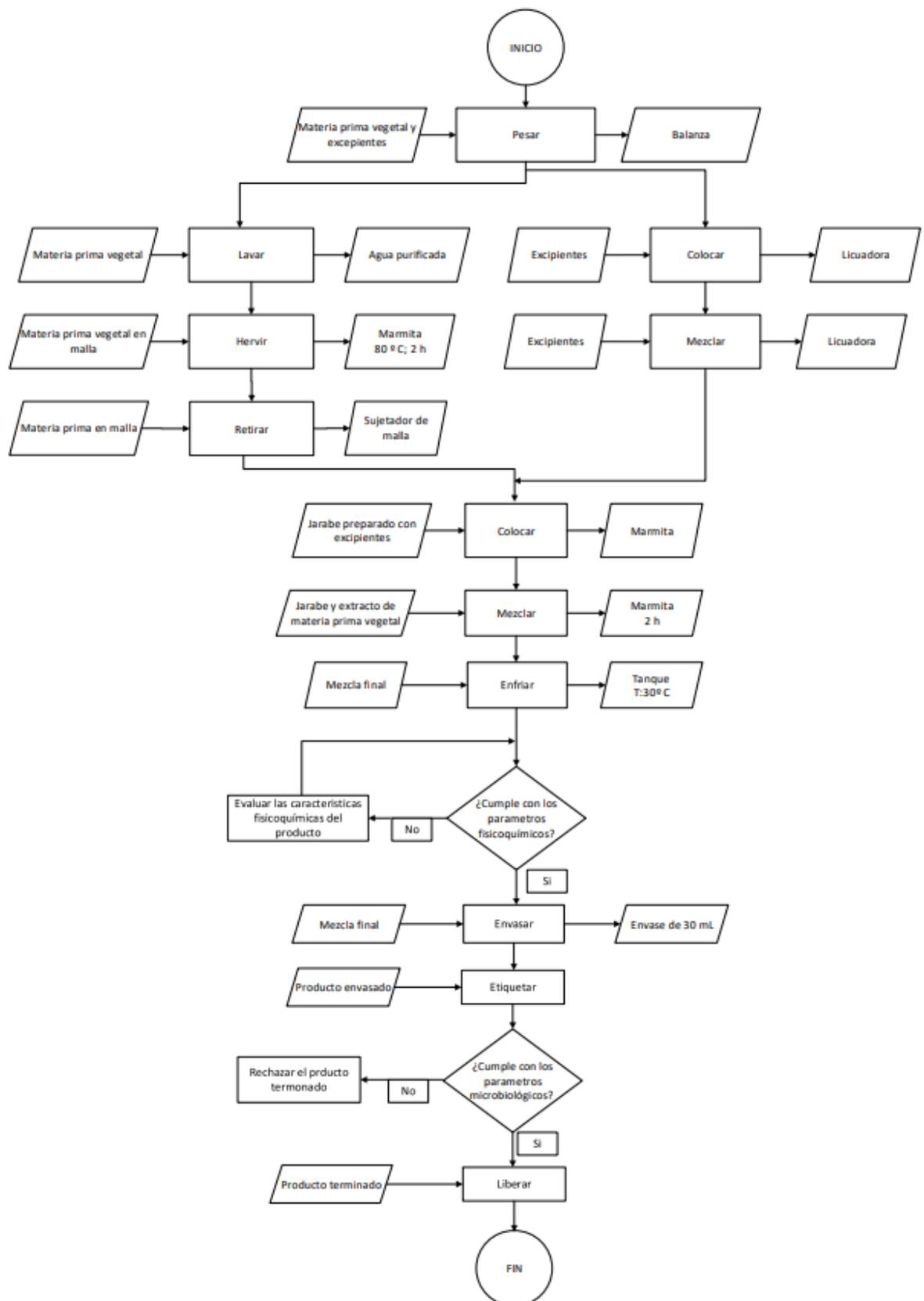
3.4. Producción del formulado

Se debe tener en consideración, que, para llegar al producto terminado, previamente se ha seguido muchos procesos, estos incluyen: Tratamiento preliminar, proceso de preparación, proceso de elaboración, envasado y etiquetado.

Para el caso del tratamiento preliminar, se realizó a través de la determinación de requisitos macro morfológicos. Además de una correcta asepsia del material a usar, mediante la utilización de agua purificada con hipoclorito de sodio, en concentraciones mínimas de 0,5 %, con el fin de eliminar cualquier agente patógeno. Para el proceso de preparación después de verificar que todos los componentes a utilizar se encuentren pesados de acuerdo con la formulación, se verificó que el área se encuentre limpia y el personal esté equipado con la vestimenta adecuada.

El proceso de elaboración se divide en dos fases, la de preparación del extracto y la preparación del jarabe de sacarosa. La primera fase consta de la obtención del extracto acuoso a partir de las semillas de linaza, hojas de sen y pulpa de pitahaya. Esta primera fase se realiza mediante un proceso de ebullición, al culminar el tiempo de ebullición y luego de ser filtrado, se procede con la preparación del jarabe. Se procede con la mezcla del extracto acuoso y el jarabe base, dejándose hervir y posteriormente en frío se realiza el control de rutina (medición de pH, viscosidad y características organolépticas). Finalmente, en el proceso de envasado se controlan las cantidades de envasado de acuerdo con los parámetros requeridos, se toma dos muestras, al inicio, mitad y final del envasado, con el objetivo de llevar las seis muestras para el control fisicoquímico y microbiológicos. Los productos restantes serán llevados a la zona de cuarentena.

FIGURA 1: Flujograma de producción del formulado.



3.5. Procedimiento para el análisis de la materia prima

Para el análisis de la materia prima se procedió con la identificación botánica, determinación de la humedad, cantidad de sustancias solubles y el porcentaje de cenizas totales, a continuación se detalla el procedimiento a seguir.

3.5.1. Identificación botánica

Se realizó un acondicionamiento de la materia prima, separando las partes deterioradas. Además, se realizó una identificación taxonómica y la caracterización macro morfológica, mismos que incluyen, forma, textura, color, entre otros. Todos los resultados hallados fueron contrastados con un respaldo bibliográfico [43,44].

3.5.2. Determinación de la humedad

Se pesó 5 gramos de la muestra en una cápsula de porcelana y desecar a 110 °C por 180 minutos, posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente y se pesó [39,40].

Fórmula:

$$\% \text{ Materia seca} = \frac{(Pf - Pi) * 100}{M}$$

$$\% \text{ Humedad} = 100 - \% \text{ Materia seca}$$

Pi: *Peso cápsula vacía*

M: *Peso de la muestra*

Pf: *Peso final (residuo + cápsula)*

3.5.3. Determinación de la cantidad de sustancias solubles

Se añadió 20 mL de agua destilada a la cantidad de cenizas obtenidas en el proceso anterior, luego se mezcló en un crisol y se hirvió a la llama de un mechero por 5 minutos. Se filtra la solución y el residuo se transfiere a un crisol donde se carbonizará con la ayuda de un mechero, posteriormente incinerado en una mufla a 700-750 °C por 2 horas. Finalmente se lleva a una desecadora y se deja que baje la temperatura hasta llegar a temperatura ambiente y pesar la cantidad de residuo obtenido [43,44].

Fórmula:

$$\%CSA = \frac{MCT - MCI}{MCM - MCV} * 100$$

%CSA: Porcentajes de cenizas solubles en agua

MCT: Masa del crisol + cenizas totales

MCI: Masa del crisol + cenizas insolubles en agua

MCM: Masa del crisol + muestra a ensayar

MCV: Masa del crisol

3.5.4. Determinación del porcentaje de cenizas totales

Se pesó 5 gramos de la muestra, luego se transfirió a una cápsula de porcelana, posteriormente se calentó, aumentando paulatinamente la temperatura hasta carbonizar, luego se incineró en una mufla hasta una temperatura de 750 °C, por 180 minutos. Después de enfriar en una desecadora, finalmente se pesó el residuo [43,44].

Fórmula:

$$\% R = \frac{PR - PC}{PM - PC} * 100$$

% R: Porcentaje de la cantidad de cenizas totales

PC: Peso del crisol

PM: Peso del crisol con la muestra

PR: Peso del crisol con el residuo

3.6. Procedimiento para el análisis del formulado

Para el análisis del producto desarrollado se procedió con la identificación de metabolitos secundarios por HPLC-MS, determinación organoléptica, índice de refracción, la cantidad de sólidos, densidad relativa y potencial de hidrógeno. Además se realizará el análisis microbiológico y la actividad oral tóxica y laxante.

3.6.1. Identificación de metabolitos secundarios por HPLC-MS

Para la identificación de metabolitos secundarios se tomó 1 mL del formulado y se colocó en una fiola de 5mL. Se llevó a volumen con metanol y se puso en baño con ondas ultrasónicas

durante 5 minutos. Posteriormente, el formulado se filtró por un disco de 0.25 µm PVDF hacia un vial HPLC y se dió lectura empleando el instrumento.

Para el análisis en cromatografía líquida de alta performance se utilizó un equipo Dionex Ultimate 3000 HPLC (Thermo Scientific), inyectando un volumen de 2 µL, se utilizó una columna Luna Omega C18 de 100 Angstrom a 40°C, con un flujo de 0.25 mL/min. La fase móvil fue el eluyente A - agua: 1% HCOOH y eluyente B - acetonitrilo: 1% HCOOH.

TABLA 3: Condiciones de análisis de Cromatógrafo UPLC

Tiempo	A	B
0	90	10
1	90	10
19	0	100
21	0	100
22	90	10

Para el análisis con el espectrómetro de masa se usó un Q Extractive Plus (Thermo Scientific) con los siguientes parámetros [45]:

- *Parámetros de scan Full MS:* Con un rango de 130-1600 m/z, resolución de 70.000, microscans de 1, AGC target de 1×10^6 y con un Maximun IT de 100 ms
- *Parámetros MS2:* Con una resolución de 17.500, AGC target de 2×10^5 y con un Maximun IT de 60 ms
- *Parámetros de fuente de ionización:* ESI (negativo/positivo) Voltaje de spray 2.5/3.0, temperatura de capilar de 290°C, con Gas carrier N2 (Sheath gas flow rate: 40, Aux gas flow rate: 10), Gas heater temperatura de 400°C, S-lens RF level de 100 y Normalized collision energy de 20,40,60.

3.6.2. Determinación organoléptica

Se esperó a que el producto se enfríe. En el caso de la determinación del color y olor se utilizó una tira de papel filtro de 10 centímetros de largo y un centímetro de ancho.

Para determinar el olor, en un tubo de ensayo, se colocó 2 mL del extracto, se introdujo la tira, y se determinó el olor emergido del producto. Para la determinación del color, se introduce la tira en el tubo de ensayo para la determinación del color y se observa el color característico. Además, advertir si hay presencia de sustancia extrañas, separación de capas y transparencia y finalmente para la determinación del sabor con una cuchara, se colocó un poco de la muestra en la punta de la lengua y se identificó el sabor [44].

3.6.3. Determinación de la densidad relativa

Se pesó el picnómetro, luego se agregó la porción de la muestra a analizar a temperatura ambiente, se secó el exceso en el exterior del picnómetro con una tira de papel. Finalmente se pesó el picnómetro con la porción de la muestra

[44]. **Fórmula:**

$$f = \frac{M2 - M1}{V}$$

M2: Masa del picnómetro

M1: Masa del picnómetro + la muestra

V: Volumen del picnómetro

3.6.4. Determinación del índice de refracción

En un prisma de medición, con la ayuda de una varilla de vidrio, se colocó una gota de agua destilada, se ajustó el refractómetro y se colocó una gota del analito sobre el prisma de medición. Se realizaron tres lecturas y se sacó un promedio [44].

3.6.5. Determinación del pH

Con la ayuda de un vaso de precipitación de 50 mL, se llenó 15 mL de la muestra y posteriormente se introdujo el electrodo del pH-metro y se realizó la lectura para cada muestra [44].

3.6.6. Determinación de la cantidad sólidos

Se pesó 5 mL de muestra, luego se transfirió a una cápsula y se llevó al baño maría a 105 °C por 3 horas, se pesó y se repitió el proceso cada 60 minutos hasta alcanzar un peso constante [44]. Expresión de resultados:

$$ST = \frac{MR - MV}{V} * 100$$

MR: Masa de la cápsula + residuo

MV: Masa de la cápsula

V: Volumen

3.6.7. Análisis microbiológico

Se realizaron siembras en medios de cultivos selectivos con el producto desarrollado, con el objetivo de identificar y cuantificar microorganismos como bacterias aerobias totales, coliformes totales, levaduras, mohos, además patógenos como *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* [44].

Recuento de microorganismos aerobios mediante el método en placa: Primero se hizo la preparación del medio: Se colocó 10,0 mL de solución buffer de fosfato de sodio a pH 7.2 en un balón aforado de 100 mL. Se agregó medio líquido de Digerido de Caseína hasta el enrase. Luego se realizó la preparación de las placas: Se fundió y enfrió placas de *Agar digerido de Caseína y Soja*. Finalmente para la preparación de la muestra se agregó la muestra al medio y se dejó reposar durante 50 minutos; posteriormente se procedió a diluir. Se prepararon dos placas de Petri para cada medio por cada nivel de dilución. Se incubaron las placas preparadas anteriormente. Se mezcló la muestra con agar colocando al contenedor de forma inclinada y se dejó solidificar el contenido. Posteriormente se invirtieron las placas de Petri y se incubaron durante 48 horas. Finalizada la incubación, se verificó el crecimiento del microorganismo mediante el conteo del número de colonias expresando el promedio de las dos placas en términos del número de microorganismos por mL de muestra [46,47].

Enumeración de mohos y levaduras: Primero se hizo la preparación del medio donde se colocó 10,0 mL de solución buffer de fosfato de sodio a pH 7.2 en un balón aforado de 100

mL. Se agregó medio líquido de Digerido de Caseína hasta el enrase. Luego para la preparación de la placa se fundió y enfrió placas de *Agar Sabouraud Dextrosa*. Finalmente para la preparación de la muestra; Se mezclaron el inóculo y el medio de cultivo con movimientos circulares que permitan la correcta homogeneización. Se esperó hasta la solidificación de las placas y posteriormente se procedió a la incubación durante 5 días a una temperatura de entre 20 a 25 °C. Finalmente se realizó el conteo de las unidades propagadoras de colonias [48].

Recuento de *Escherichia coli*: Para la preparación de la muestra en el medio de enriquecimiento: Se colocó 1 g de muestra en un balón aforado de 10 mL y se añadió el medio hasta completar el aforo. Se tomó 1 mL de la solución preparada, se inoculó en una cantidad adecuada de el medio de digestión (Caseína y Soja) y posteriormente se homogeneizó. Se filtró por membrana esteril 100 mL de caldo con la muestra y el filtrado se incubó a una temperatura de 30-35 °C durante 24 horas. Se realiza el procedimiento por triplicado para obtener la muestra enriquecida y poder proseguir con el desarrollo específico de la metodología del recuento de *Escherichia coli*. El crecimiento de colonias indica la posible presencia de *E. coli* [46,49].

Recuento de *Pseudomonas aeruginosa*: Se colocó la muestra en una placa de Agar Cetrimida con movimiento circulares, se incubó a una temperatura de 30 a 35 °C durante 18 horas. Se realizó la identificación mediante pruebas de oxidación y bioquímicas para confirmar la presencia del microorganismo [50].

Recuento de *Staphylococcus aureus*: Se realizó el cultivo de la muestra en una placa de Agar Manitol Salado, se incubó a una temperatura de 30 a 35 °C durante 18 horas. Se realizó la identificación mediante la prueba de coagulasa que consistió en transferir colonias representativas en tubos separados que contengan 0,5 mL de plasma de cualquier mamífero, se incubó a 37 °C mediante baño térmico. Se realizó la verificación de la coagulación posterior a las 3 horas de incubación y en intervalos de 24 horas. Se determina la ausencia de *S. aureus* si no se produce la coagulación [46].

A continuación en la tabla 4, se indican los niveles microbianos generales aceptables para los productos botánicos, misma que se basa en las Pruebas de recuento microbiano de Suplementos Nutricionales y dietéticos del año 2021 de la USP 42 [46].

TABLA 4: Límites microbianos recomendados para ingredientes y productos botánicos [46].

Material	Requisitos de límites microbianos recomendados
Suplementos dietéticos con productos botánicos	Recuento Total de microorganismos Aerobios $\leq 10^4$
	Recuento Total combinado de Hongos, filamentosos y levaduras $\leq 10^3$
	Ausencia de <i>E. coli</i> y <i>Salmonella spp.</i> en 10 g

3.6.8. Actividad oral tóxica aguda

Se realizó siguiendo las directrices 423 de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) [51]. Para ello se utilizó nueve ratas machos de la cepa Sprague Dawley de 2 meses de edad, con un peso corporal entre 200-240 g (n=3), a las cuales se administró vía oral 2000 mg/Kg del formulado, con una repetición de tres ratas adicionales. Al no existir toxicidad en esta dosis evaluada, se procedió a ensayar en tres ratas, con una dosis de 5000 mg/Kg del formulado. El volumen de la muestra que se administró es de 1 mL. Se evaluaron los síntomas neurológicos, conductuales y autónomos, así como la mortalidad los primeros 30 minutos, luego cada 24 horas durante los siguientes 14 días después de la administración del extracto acuoso [52-54]. Los signos a evaluar se presentan en la tabla 4:

TABLA 5: Signos a evaluar en las ratas [51].

1. Evaluación del Comportamiento	<ul style="list-style-type: none"> - Presencia o ausencia de agresividad - Presencia o ausencia de convulsiones - Existencia o no de Movimiento en círculo - Se observa o no letárgica
2. Evaluación del Sistema Respiratorio	<ul style="list-style-type: none"> - Presencia o no de dificultad respiratoria como disnea o jadeo
3. Evaluación del Sistema Digestivo	<ul style="list-style-type: none"> - Presencia o no de constipación - Presencia o no de diarrea

4. Evaluación del Sistema Cardiovascular	<ul style="list-style-type: none"> - Presencia o ausencia de cianosis - Presencia o ausencia de sangrado por orificios naturales
5. Evaluación del Sistema Urogenital	<ul style="list-style-type: none"> - Se observa o no orina turbia
6. Evaluación de la Piel	<ul style="list-style-type: none"> - Presencia o ausencia de mucosas ictéricas - Hay o no piloerección - Presencia o ausencia de Reflejo pupilar a la luz como midriasis / miosis
7. Evaluación del aparato muscular	<ul style="list-style-type: none"> - Presencia o ausencia de Cojera - Hay o no inmovilidad - Presencia o ausencia de temblor
8. Evaluación del Compromiso Sistémico	<ul style="list-style-type: none"> - Presencia o ausencia de Coma - Presencia o ausencia de deshidratación

El peso corporal se registró al tiempo 0, 7 y 14 días. Los animales de experimentación utilizados fueron tratados según las normas éticas descritas en Las tres Erres de W. Russell y R. Burch: alternativas de reemplazo, alternativas de reducción y alternativas de refinamiento [55]. Al finalizar el experimento se sacrificó a los animales, para ello fueron anestesiados primeramente con una dosis de pentobarbital sódico de 30 - 40 mg/kg por vía Intraperitoneal, luego se les aplicó la eutanasia con una sobre dosis de pentobarbital sódico 200-250 mg/kg. por la misma vía, siguiendo lo indicado en el procedimiento MBT-PR-012.00 Eutanasia y Necropsia del Laboratorio de Servicio de Control de Calidad y luego se procedió con la necropsia a todos los animales experimentados, siguiendo el procedimiento antes indicado [56-59].

3.6.9. Actividad laxante en ratas normales

Para evaluar la actividad laxante en ratas normales se procedió a seguir la metodología descrita por Tessema MY, Wubneh ZB, Asrie AB, en el año 2020 [4]. Por lo cual se utilizaron 25 ratas que fueron divididas en cinco grupos de cinco ratas cada uno (n=5). Los animales fueron ubicados individualmente en jaulas que se encontraban forradas con papel filtro, diseñadas para recolectar materia fecal y se dejaron en ayunas durante 12 horas. Luego se

evaluó la actividad laxante a las ocho horas de ser administrado el producto. Los animales se dividieron aleatoriamente en cinco grupos de la siguiente manera: El primer grupo fue el control negativo, recibieron solución salina de 5mL/Kg. El segundo fue el grupo control positivo, al cual se administró picosulfato de sodio 5 mg/kg. El tercer, cuarto y quinto grupo recibieron la dosis única de 100, 250 y 500 mg/Kg de formulado a base del extracto acuoso de pitahaya, linaza y sen, respectivamente. Luego de la dosificación se procedió a la recolección de heces individualmente. La producción fecal total fue monitoreada por 8 horas. Al final se obtuvo el peso húmedo de las heces recolectadas. Posteriormente la materia fecal se secó por 24 horas en una estufa a 45 °C y se volvió a pesar con la finalidad de obtener el valor del peso en seco de las heces [52].

Para determinar la actividad laxante se midió el contenido de agua fecal siguiendo la siguiente fórmula.

$$\%AF = \frac{PA - PD}{PA} * 100$$

%AF: Porcentaje de contenido de agua fecal

PA: Peso fecal antes de secar

PD: Peso fecal después de secar

PA: Peso fecal antes de secar

3.6.10. Actividad laxante en ratas constipadas con loperamida

Para el desarrollo de este estudio, se dividió a las 25 ratas en cinco grupos de cinco animales, siguiendo la metodología descrita por Tessema MY, Wubneh ZB, en el año 2020 [4]. Las ratas fueron ubicadas en jaulas individuales, forradas con papel filtro, estuvieron en ayunas durante 18 horas. El primer grupo (control negativo) recibió solución salina normal (5 mL/Kg). El segundo grupo (control positivo), recibió picosulfato de sodio (5 mg/Kg). El tercer, cuarto y quinto grupo fueron tratados con dosis del extracto de 100, 250 y 500 mg/Kg del extracto acuoso respectivamente. Al transcurrir una hora, todos los grupos recibieron 5 mg/Kg de Loperamida utilizando una sonda nasogástrica (tal como se recomienda en la guía 423 de la OECD) [51]. Luego de la dosificación se procedió a la recolección de heces individualmente. La producción fecal total fue monitoreada por 8 horas. Al final se obtuvo el

peso húmedo de las heces recolectadas. Posteriormente la materia fecal se secó por 24 horas en una estufa a 45 °C y se volvió a pesar con la finalidad de obtener el valor del peso en seco de las heces [52].

$$\%AF = \frac{PA - PD}{PA} * 100$$

%AF: Porcentaje de contenido de agua fecal

PA: Peso fecal antes de secar

PD: Peso fecal después de secar

PA: Peso fecal antes de secar

3.7. Análisis estadístico

Para el análisis se tomó en cuenta las variables independientes como: la concentración del extracto acuoso. Y la variable dependiente como el peso de las heces (la cual mide la actividad laxante). Los datos fueron tratados mediante los softwares de Excel y el programa estadístico Statgraphics 18. Los resultados obtenidos son expresados como promedio de la desviación estándar de la respuesta. La significancia estadística fue determinada empleando los datos obtenidos en los ensayos para evaluar el efecto del extracto acuoso a base de productos naturales a diferentes dosis con niveles de significancia del 95% ($p < 0.05$) por un test de Anova para determinar si existen o no diferencias significativas. Todos los resultados son presentados empleando tablas [58].

4. RESULTADOS

4.1. Análisis de la materia prima

A continuación se detallan los valores y características obtenidas para la materia prima.

4.1.1. Identificación botánica

La clasificación taxonómica de las semilla de linaza (*Linum usitatissimum Linnaeus*), mismas que son de color café con una forma ovalada. Los datos obtenidos coinciden con lo detallado por estudios previos realizados [22,60] y con el libro de plantas Vasculares del Herbario Central del Ecuador.

TABLA 6: Clasificación taxonómica de las semillas de Linaza

Semillas de Linaza	
Nombre común	Linaza o Linum
Nombre científico	<i>Linum usitatissimum</i>
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Malpighiales
Familia	Linaceae
Género	Linum
Especie	Linum usitatissimum

Los resultados presentados en la Tabla 7, detalla la clasificación taxonómica del fruto de pitahaya (*Hylocereus undatus*) se caracteriza por presentar en su fruto un color de cáscara rojo-rosa, mientras que la pulpa es blanca. Además se encuentra cubierto de bractéolos rojos y verdes en las puntas. Los datos obtenidos coinciden con lo detallado por estudios previos realizados [34].

TABLA 7: Clasificación taxonómica del fruto de pitahaya.

FRUTO DE PITAHAYA	
Nombre común	Fruta del dragón o Pitahaya
Nombre científico	<i>Hylocereus undatus</i>
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Caryophyllale
Familia	Cactácea-cactaceae
Género	Hylocereus
Especie	Hylocereus undatus

Por otro lado, los resultados presentados en la Tabla 8, hacen referencia a la clasificación taxonómica de las hojas de sen (*Cassia angustifolia Vahl*). Las hojas son pinnadas de color verde grisáceo. Los datos obtenidos coinciden con lo detallado por estudios previos realizados [36,61].

TABLA 8: Clasificación taxonómica de las hojas de sen

HOJAS DE SEN	
Nombre común	Senna
Nombre científico	<i>Cassia angustifolia</i>
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Fabales
Familia	Fabaceae
Género	Sena
Especie	S.auriculada

4.1.2. Parámetros fisicoquímicos

Se realizaron las pruebas fisicoquímicas a cada materia prima y a través de referencias bibliográficas se obtuvo el valor referencial (VR), para de esta manera determinar si existe similitud entre ambos valores. A continuación en la tabla 9 se detallan los resultados obtenidos de las tres materias primas.

TABLA 9 Parámetros fisicoquímicos de la materia prima

Parámetros físico-químicos (X±S)						
Parámetro / Descripción	Linaza		Pitahaya		Sen	
	VO	VR	VO	VR	VO	VR
% Humedad	3,6	< 10,8	78,2	< 10	3,87	-
% Sustancias solubles en agua	4,02	< 5	2,1	16-18	13,5	-
% de Cenizas totales	4,05	< 12	1,11	10.8-14.90	11,50	-

VO: Valor obtenido

VR: Valor referencial

Cómo se observa en cuánto al cálculo del porcentaje de humedad para la linaza se obtuvo un valor de 3.6 %, encontrándose dentro de los parámetros normales en la indignación bibliográfica que fue menor al 10,8%. Por otro lado para la pitahaya se obtuvo un valor de 78,2% y para el sen 3,87%, encontrándose dentro de los intervalos normales mencionados por estudios previos.

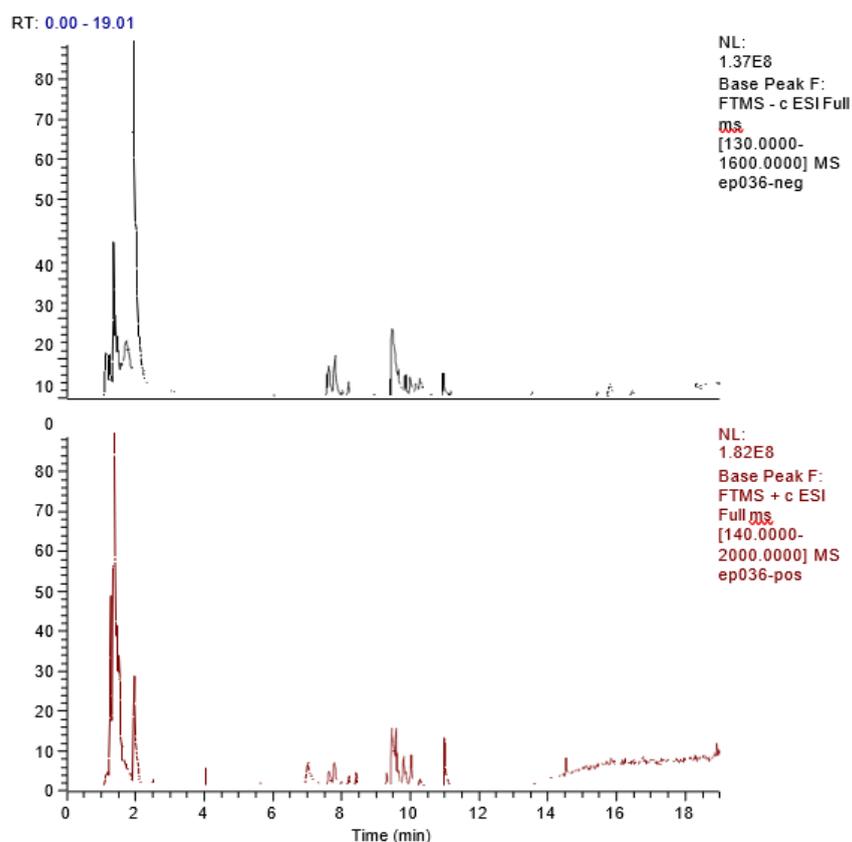
En cuánto a los valores obtenidos del porcentaje de sustancias solubles en agua se obtuvo para la linaza un valor de 4,02%, para la pitaya 2,1% y para el sen el 13,5%. Por otro lado, para el porcentaje de sustancias solubles en agua de la linaza se obtuvo un valor de 4,05%, para la pitahaya 1,11% y para el sen un valor de 11,5%. De la misma al igual que en el caso del cálculo del porcentaje de humedad, se evidencia que todos los valores hallados se encuentran dentro de los parámetros normales en comparación con estudios previos.

4.2. Análisis del formulado

4.2.1. Identificación de metabolitos secundarios por HPLC-MS

En los resultados del Anexo 1, se detalla la relación de compuestos detectados mediante HPLC-MS en la muestra del formulado. Se identificó un total de 42 compuestos de los cuales se descartó 3 compuestos al no ser no identificados y 2 compuestos por corresponder al Contaminante plástico (ftalato). En la figura 2 se exponen los cromatogramas de corriente iónica total, los espectros de masas de los compuestos presentes, la intensidad de las señales (picos), y la presencia o ausencia de estas. Se evidencia además que cambia según la concentración y las características estructurales de las moléculas presentes en la muestra.

FIGURA 2: Cromatogramas TIC para la muestra analizada.



En el Anexo 1, se detalla la relación de compuestos tentativamente identificados en las muestras. Las tablas incluyen información sobre las estructuras, los valores m/z de los iones detectados en full ESI-MS (positivo y/o negativo) y los principales fragmentos observados en los espectros MS/MS, también se indica el error en ppm para el cálculo de la fórmula molecular (≤ 5 ppm).

Los resultados indican que la muestra presenta entre sus componentes: ácidos orgánicos, catequinas y sus derivados, flavonoides y alcaloides. En este último grupo, se detectaron alcaloides de tipo apurínicos (Lautotetanine (isomer 1), Corydine, Lautotetanine (isomer 1), Isocorydine) y sus derivados. Se describen también las antraquinonas, entre ellas principalmente los senósidos A, B y C (principio activo de las hojas de sen), encargados de la actividad laxante, pertenecientes a los compuestos: Sennoside A, Sennoside B (isomer 1), Sennoside C, Sennoside B (isomer 2) y Monorhein, respectivamente.

Se detallan además algunos flavonoides como los compuestos Isorhamnetin-3-O-Glucoside, Isorhamnetin-3-O-rutinoside, Rhamnetin 3-(4-rhamnosylrhamnoside), Lautotetanine (isomer 2), Astragalín 7-rhamnoside, Isorhamnetin 3-O-[hexosyl-(1→4)-hexoside].

4.2.2. Determinación organoléptica

Se describe a continuación en la tabla 10 los valores obtenidos con respecto a la caracterización organoléptica. Como se puede evidenciar no hay estándares referenciales con los que podamos comparar debido a que los valores son propios del formulado.

TABLA 10: Características organolépticas del formulado.

Determinación organoléptica	
Parámetro / Descripción	Valor obtenido
Color	Marrón opalescente
Olor	Característico
Sabor	Piña
Aspecto	Líquido

4.2.3. Parámetros fisicoquímicos del formulado

Con respecto a la caracterización fisicoquímica del formulado en la tabla 11 se puede evidenciar que no hay estándares referenciales con los que podamos comparar debido a que los valores son propios del formulado.

TABLA 11: Características fisicoquímicas del formulado.

Parámetros físico-químicos del formulado (X±S)	
Parámetro / Descripción	Valor obtenido
Densidad relativa	1.01 g/mL
Índice de refracción	1,34
pH	5,5
Sólidos totales	2,2 %

4.2.4. Análisis microbiológico

A continuación en la tabla 12, se presentan los resultados para el análisis microbiológico. Obteniendo resultados conformes a la especificación requerida. Esto debido a que no presenta crecimiento microbiológico.

TABLA 12: Recuento microbiológico y detección de patógenos en el formulado

Recuento microbiológico y detección de patógenos				
Material	Unidad	Resultado	Especificación	Metodología
Coliformes totales	UFC/mL	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$	USP - 36 < 2021-2022-2023>
Aerobios mesófilos	UFC/mL	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$	
Levaduras	UFC/mL	$\leq 10^3$	$\leq 10^3$	
Mohos	UFC/mL	$\leq 10^3$	$\leq 10^3$	
Escherichia coli	UFC/mL	Ausencia	Ausencia en 10 g	
Pseudomonas aeruginosa	UFC/mL	Ausencia	Ausencia en 10 g	
Staphylococcus aureus	UFC/mL	Ausencia	Ausencia en 10 g	

4.2.5. Actividad oral tóxica aguda

Se determinó la Toxicidad Aguda por la vía oral del formulado siguiendo los procedimientos descritos en el protocolo de la Organización Económica para el Comercio y Desarrollo (OECD).

TABLA 13: Tratamientos de Experimentación

Dosis (mg / Kg peso corporal)	N° de animales Machos	Peso por grupos (g)
2000	3	224,51
2000 (repetición)	3	222,75
5000	3	225,63
Control	3	220,11

La prueba incluyó dos tratamientos con una duplicación. Las dosis tratadas fueron de 2000 y 5000 mg/Kg del formulado. El volumen de administración de la muestra fue de 1 mL, al primer grupo que es el grupo control se le dosifica agua destilada. La mortalidad fue observada diariamente hasta los 14 días. Los tratamientos son detallados en la Tabla 14.

TABLA 14: Resultados de la Toxicidad Aguda Oral

Dosis (mg/Kg peso corporal)	Mortalidad Machos Muertos/Total
2000	0/3
2000 (repetición)	0/3
5000	0/3
Control	0/3

Cada rata fue sacada de su jaula durante los 14 días de evaluación, con la finalidad de observar que incluyó abdomen, cavidad oral, comportamiento general, piel, ojos y genitales externos (Como lo indica la Tabla 15).

Evaluación Macroscópica y Necropsia: Al terminar de evaluar durante los catorce días, las ratas fueron sacrificadas. Para el proceso de necropsia se incluye los exámenes macroscópicos externos, todos los orificios naturales, los órganos de los sistemas involucrados. Todas las anomalías en cavidades y tejidos fueron registradas. El formulado no genera mortalidad en las dosis ensayadas durante los catorce días de evaluación de este estudio. La DL_{50} por vía oral de la muestra diluida en agua destilada es mayor a 5000 mg/Kg del formulado ($DL_{50} > 5,0$ g/Kg de peso corporal) (Tabla 14).

En la Tabla 15, se estima que no se evidencian alteraciones en los sistemas evaluados. Además no se presenta pérdida de peso, diarrea, alteraciones en la actividad motriz, convulsiones, entre otros.

TABLA 15: Resumen de valoración clínica

OBSERVAC. DOSIS (mg/Kg)	Hora - Día																	
	N° DE ANIMAL	1h	2h	4h	1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h	8h	9h	10h	11h	12h	13h	14h
2000	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CONTROL	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2000 (repetición)	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5000	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

No presenta: 0

M: Muerte

S: Sangrado por orificios naturales

CM: Coma

A: Agresividad

AN/PL: Anuria/Poliuria

DH: Deshidratación

C: Convulsiones

OT: Orina turbia

AA: Alteración ingesta de alimentos

MC: Movimiento en círculo

MI: Mucosas ictéricas

PT: Postración

L: Letárgica

Presenta:

PE: Piloerección

RA: Rigidez abdominal

D: Disnea

MD/MI: Reflejo pupilar (Midriasis/Miosis)

HT/HT: Hipertermia/Hipotermia

J: Jadeo

CJ: Cojera

CT: Constipación

I: Inmovilidad

DR: Diarrea

T: Temblor

CI: Cianosis

En la tabla 16, se evidencia que durante la necropsia, los grupos no presentan daños ni alteraciones en los órganos de los sistemas respiratorio, digestivo, cardiovascular, urogenital, sistémico y a nivel de la piel, en las dosis ensayadas incluyendo la repetición.

TABLA 16: Evaluación macroscópica

ÓRGANO Y/O SISTEMA	DOSIS (mg/Kg peso corporal) / N° animal											
	2000			CONTROL			2000 (repetición)			5000		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
RESPIRATORIO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DIGESTIVO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CARDIOVASCULAR	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
UROGENITAL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PIEL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SISTÉMICO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

0: No Presenta alteración

+: Presenta alteración

4.2.6. Actividad laxante en ratas normales

Para el presente estudio se ensayaron dos modelos: Con ratas normales y con ratas constipadas. en un rango de peso de 220 – 240 g. Los tratamientos ensayados son detallados en la Tabla 17.

TABLA 17: Tratamientos de experimentación con el formulado

Grupo	Animales	Dosis
Control	5	Solución salina 0.9%
Picosulfato de sodio	5	5 mg/kg
Dosis 1	5	100 mg/kg
Dosis 2	5	250 mg/kg
Dosis 3	5	500 mg/kg

La muestra analizada presenta actividad sobre la Actividad Laxante, en el modelo con ratas normales, a las dosis de 100, 250 y 500 g/Kg del formulado. Los datos son mostrados en la Tabla 18, Figura 3 y 4.

TABLA 18: Determinación de los valores obtenidos con el formulado

Grupo	Animales	Dosis	% AF	Salida de heces (g) ± DS	Nivel de Significancia
Control	5	-	33.39	1.102 ± 0.18	-
Picosulfato de sodio	5	5 mg/kg	97.23	6.22 ± 0.56	* p < 0.05
Dosis 1	5	100 mg/kg	96.42	5.09 ± 0.50	* p < 0.05
Dosis 2	5	250 mg/kg	97.07	5.60 ± 0.13	* p < 0.05*
Dosis 3	5	500 mg/kg	97.77	7.19+ 1.01	* p < 0.05*

- * p < 0,05 = Hay diferencias estadísticas significativas con respecto al grupo control.

%AF: Porcentaje de contenido de agua fecal.

Los resultados presentados en la tabla 18, a dosis de 100, 250 y 500 g de muestra/Kg de peso corporal, los animales presentan diferencias significativas (*p<0.05) con respecto al grupo control. Se observa que en el grupo al que se le administró el picosulfato de sodio (6.22 ± 0.56 , $P<0,05$) fue el más elevado. Además se observa que el formulado con la dosis 3 de 500 mg/Kg produjo un porcentaje significativo ($7.19 + 1.01$, $P<0,05$) del contenido de agua de las heces, logró producir un mayor efecto en comparación con el valor obtenido con el picosulfato sódico.

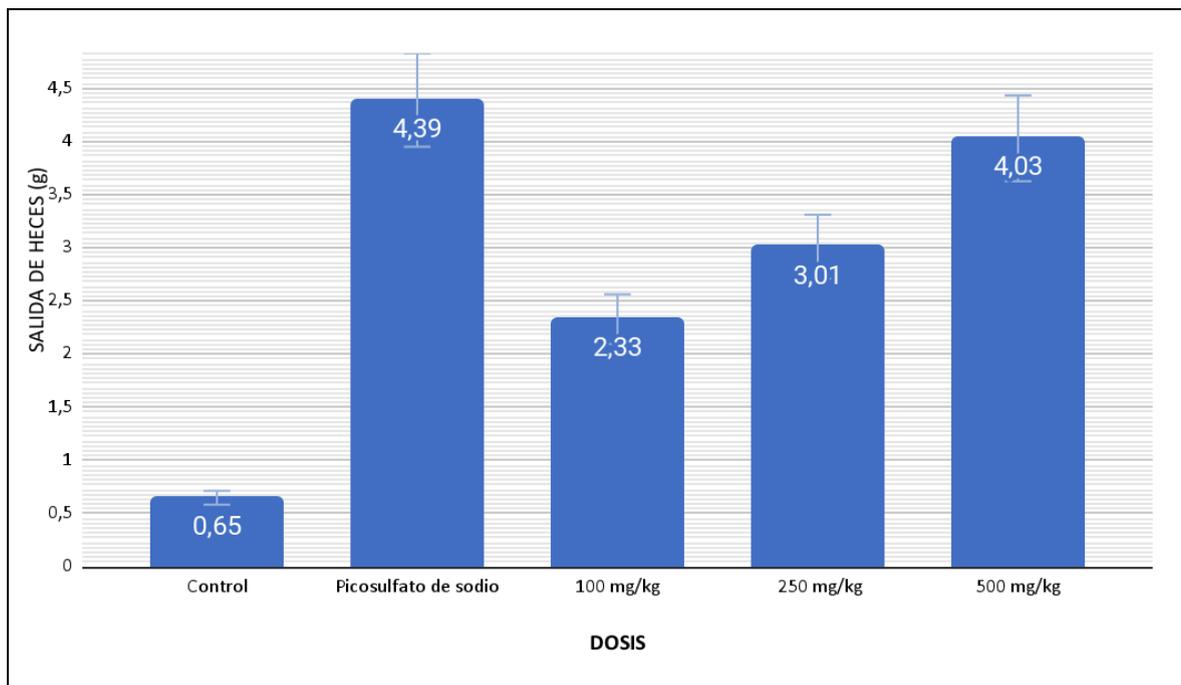


FIGURA 3: Determinación de la Actividad Laxante del formulado en ratas normales

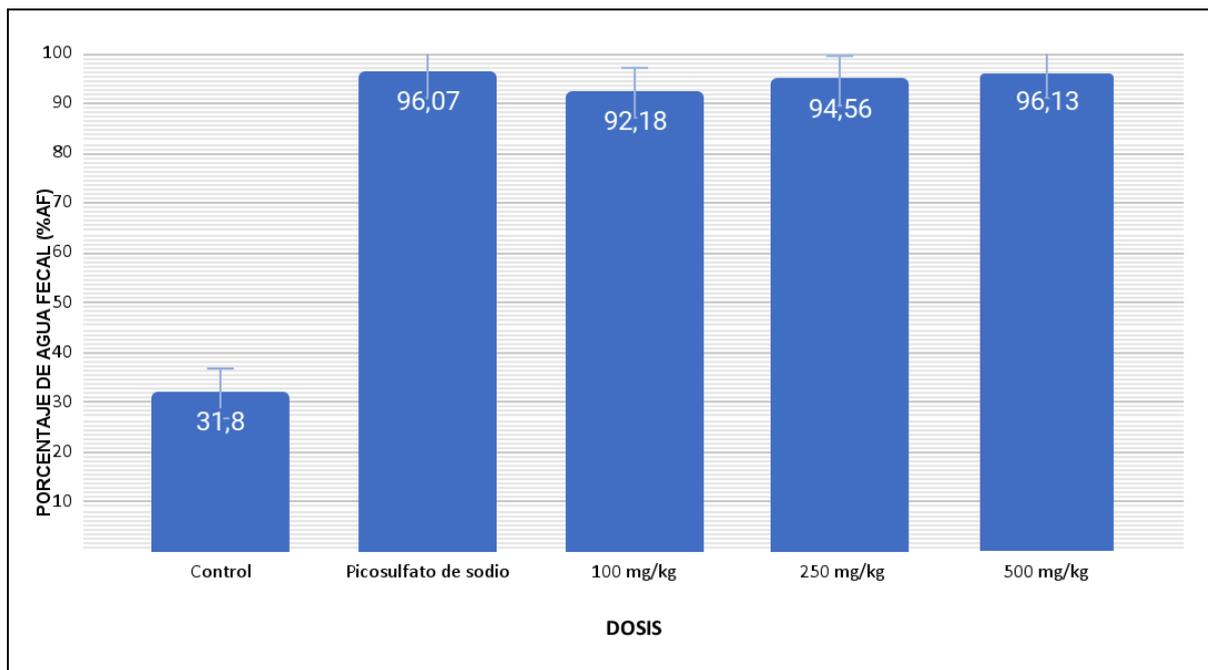


FIGURA 4: Dosis versus porcentaje de agua fecal para ratas normales

4.2.7. Actividad laxante en ratas constipadas con loperamida

La muestra analizada presenta actividad sobre la Actividad Laxante, en el modelo con ratas constipadas, a las dosis de 100, 250 y 500 g/Kg del formulado. Los datos se muestran en la Tabla 19, Figura 5 y 6.

TABLA 19: Determinación de los valores obtenidos para el formulado.

Grupo	Animales	Dosis	% AF	Peso de heces (g) ± DS	Nivel de Significancia
Control	5	-	31.80	0.65 ± 0.11	
Picosulfato de sodio	5	5 mg/kg	96.07	4.39 ± 0.54	* p < 0.05*
Dosis 1	5	100 mg/kg	92.18	2.33 ± 0.46	* p < 0.05*
Dosis 2	5	250 mg/kg	94.56	3.01 ± 0.56	* p < 0.05*
Dosis 3	5	500 mg/kg	96.13	4.03 ± 0.16	* p < 0.05*

* p < 0,05 = Hay diferencias estadísticas significativas con respecto al grupo control.

%AF: Porcentaje de contenido de agua fecal

Los resultados presentados en la tabla 19 con el modelo con ratas constipadas con loperamida, demuestra que al igual que con el modelo de ratas normal, a dosis de 100, 250 y 500 mg/Kg del formulado, los animales presentan diferencias significativas (*p<0.05) con respecto al grupo control. Se observa que en el grupo al que se le administró el picosulfato de sodio (4.39 ± 0.54 , $P<0,05$) fue el más elevado. Aunque el formulado con la dosis 3 de 500 mg/Kg produjo un porcentaje significativo ($4.03+ 0.16$, $P<0,05$) del contenido de agua de las heces, no logró producir un mayor efecto en comparación con el valor obtenido con el picosulfato sódico.

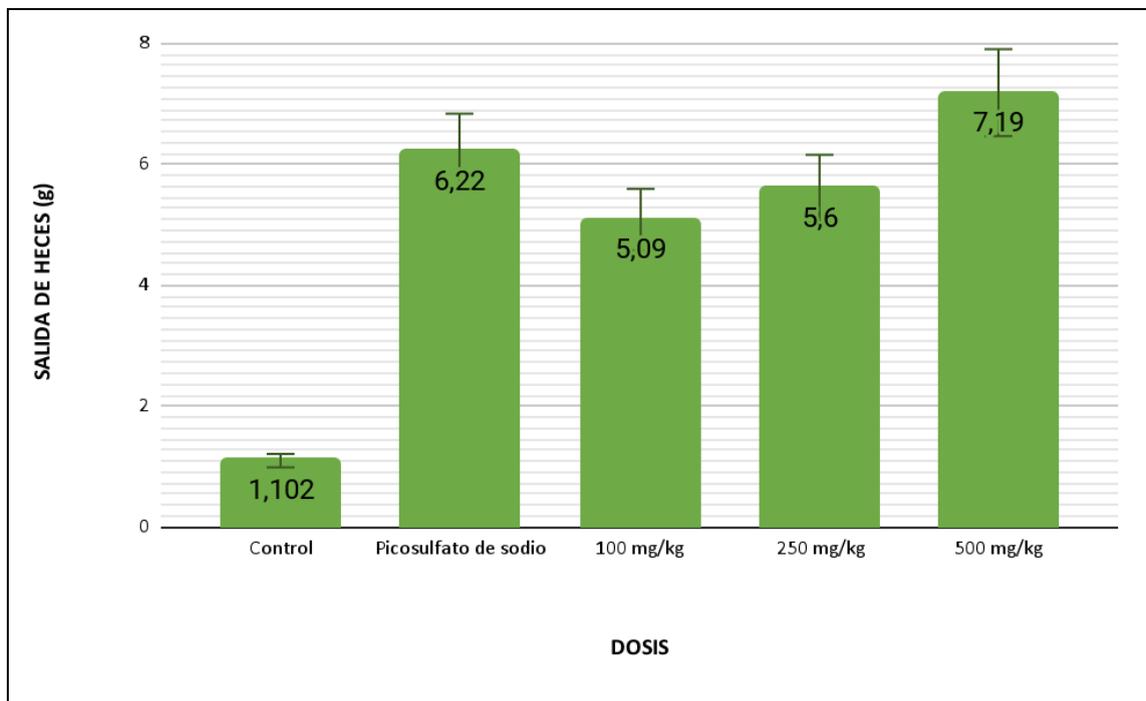


FIGURA 5: Determinación de la Actividad Laxante del formulado en ratas constipadas.

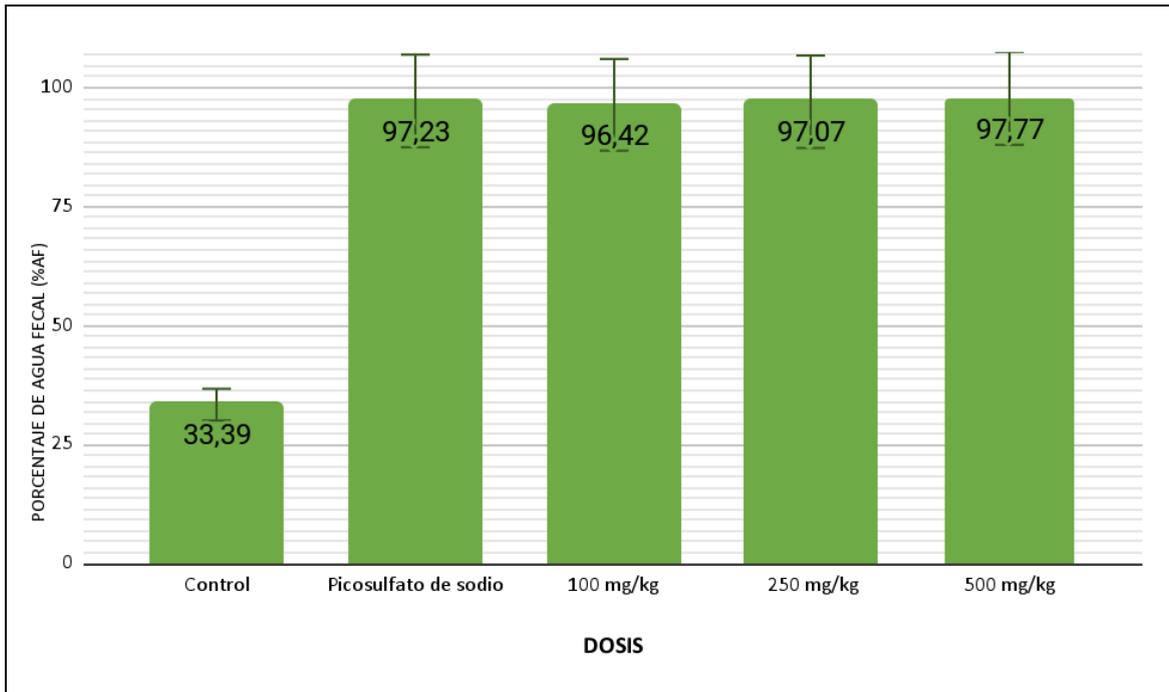


FIGURA 6: Dosis versus porcentaje de agua fecal para ratas normales en ratas constipadas.

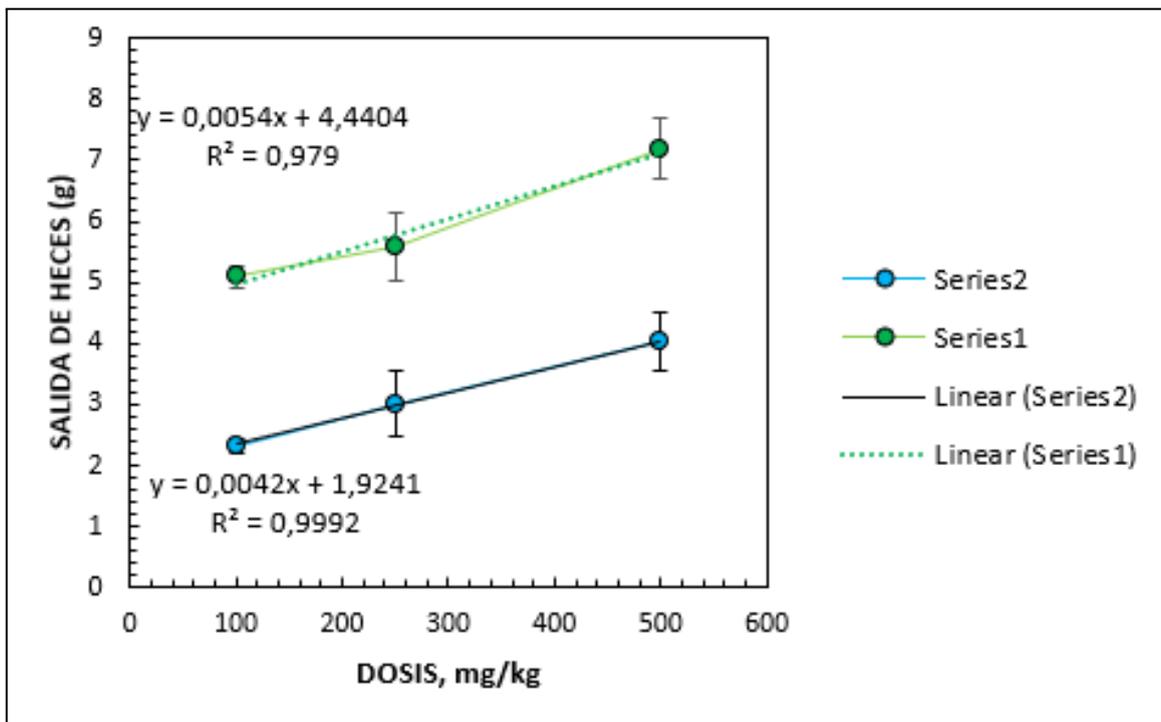


FIGURA 7: Gráfico comparativo de los dos modelos animales.

4.2.8. Análisis estadístico

Como se evidencia en la Tabla 20, de los resultados del análisis estadístico, en el caso de la comparación de las ratas en estado normal del Control-Dosis 1, en el ANOVA (Anexo 7) se muestra una diferencia significativa respecto a la muestras a las que fueron aplicadas la dosis 1 (100 mg/Kg) y el picosulfato de sodio (5 mg/Kg). Lo que no ocurre con el Control-Dosis 2, se evidencia en el ANOVA (Anexo 7) no se muestra una diferencia significativa respecto a la muestras a las que fueron aplicadas la dosis 2 (250 mg/Kg) y el picosulfato de sodio (5 mg/Kg).

Según se evidencia se muestra una diferencia significativa respecto a las muestras a las que fueron aplicadas la dosis 3 (500 mg/Kg) y el picosulfato de sodio (5 mg/Kg). Se muestra también una diferencia significativa respecto a las muestras a las que fueron aplicadas la dosis 1 (100 mg/Kg) y la dosis 2 (250 mg/Kg). Lo mismo ocurre al comparar la dosis 1 (100 mg/Kg) con la dosis 3 (500 mg/Kg); y la dosis 2 (250 mg/Kg) con dosis 3 (500 mg/Kg), ya que se muestra una diferencia significativa.

Como se evidencia en la Tabla 20, en el caso de la comparación de las ratas constipadas del Control-Dosis 1 se evidencia en el ANOVA (Anexo 7) se muestra una diferencia significativa respecto a la muestras a las que fueron aplicadas la dosis 2 (100 mg/Kg) y el picosulfato de sodio (5 mg/Kg). Lo que no ocurre al comparar la dosis 3 (500 mg/Kg) con el picosulfato de sodio (5 mg/Kg); y la dosis 1 (100 mg/Kg) con la dosis 2 (250 mg/Kg), ya que no se muestra una diferencia significativa.

Según se evidencia en el ANOVA (Anexo 7) se muestra una diferencia significativa respecto a la muestras a las que fueron aplicadas la dosis 2 (250 mg/Kg) y el picosulfato de sodio (5 mg/Kg). Lo mismo ocurre al comparar la dosis 1 (100 mg/Kg) con la dosis 3 (500 mg/Kg) y la dosis 2 (250 mg/Kg) con la dosis 3 (500 mg/Kg), ya que todas son estadísticamente significativas.

TABLA 20: Resultados del análisis estadístico.

TRATAMIENTO ESTADÍSTICO PARA RATAS NORMALES		
ANOVA	P-Valor	Criterio
Picosulfato de sodio/Dosis 1	0,01	Son significativamente diferentes
Picosulfato de sodio/Dosis 2	0,8530	No significativamente diferentes
Picosulfato de sodio/Dosis 3	0,0152	Son significativamente diferentes
TRATAMIENTO ESTADÍSTICO PARA RATAS CONSTIPADAS		
Picosulfato de sodio/Dosis 1	0,0002	Son significativamente diferentes
Picosulfato de sodio/Dosis 2	0,0046	Son significativamente diferentes
Picosulfato de sodio/Dosis 3	0,2078	No significativamente diferentes

5. DISCUSIÓN

La identificación botánica realizada por la botánica Carmen Reyes de la Universidad central del Ecuador, determinó que las semillas utilizadas de linaza corresponden a *Linum usitatissimum*, las hojas de sen corresponde a la especie *Cassia angustifolia* y el fruto de pitahaya corresponde a la especie *Hylocereus undatus*.

Según Balón S. las semillas de la especie *Linum usitatissimum* utilizada para su estudio presenta en la cobertura, el embrión que posee dos cotiledones que son de forma aplanada y grande presentando una radícula y un hipocótilo corto como se evidencio en la muestra. Según Montesinos J. y sus colaboradores la especie *Hylocereus undatus* posee un fruto que mide alrededor de ocho a quince centímetros de largo y de seis a diez centímetros de diámetros. El pericarpelo es rojo y de tipo baya globosa o subglobosa dehiscente. Según Thaker K. y sus colaboradores la especie *Cassia angustifolia* presenta hojas pinnadas de color verde grisáceo, de 2 a 2,5 cm de largo y sus semillas son granos ovalados [63].

Los valores de porcentaje para la humedad residual obtenidos sugiere que se encuentra dentro de los parámetros de calidad establecidos por las normas de la OMS [63], es decir, valores no superiores al 10 %. Lo cual nos indica que a menos cantidad de agua, el

crecimiento bacteriano y micótico disminuye. El porcentaje de humedad de linaza fue de 3,6% que se encuentra debajo del límite descrito por Bailey, A que corresponde al 10,8 %, por lo tanto cumple con el parámetro establecido ya que a valores mayores del mencionado por el auditor se produce el comienzo de la rápida de alteración de los componentes nutricionales (grasas, proteínas, carbohidratos) [64].

En la tabla el valor obtenido en el porcentaje de humedad de pitahaya se encuentra debajo del límite de 87,5% reportado por Diaz J; esto podría deberse a factores de humedad de almacenamiento del fruto ya que según Velazquez, Y menciona en su estudio que la humedad y la temperatura influyen en la pérdida de agua del fruto de pitahaya [65,66]. En la tabla el valor obtenido en el porcentaje de humedad de las hojas de sen fue de 3,87. Según Kumar A, mientras menor sea el porcentaje de humedad se presenta mayor cantidad de senosidos que son los encargados de la actividad laxante [67].

Las cenizas totales hacen referencia a la cantidad de sal mineral que presenta la materia prima, lo cual es de importancia ya que puede ocasionar alguna acción farmacológica no deseada [22]. El porcentaje de cenizas de pitahaya fue de 1,11% que se encuentra en relación a los valores reportados por Diaz J, que corresponden a 0.9%, esto podría deberse a una menor concentración de materia inorgánica en la matriz analizada ya que según Iturralde, F y su colaborador menciona que las cenizas equivale al residuo inorgánico [66-68]. En cuanto a el valor reportado de cenizas en linaza se encuentra en 3,14 % que se relaciona con el valor obtenido en el análisis realizado [69]. No se encontró información sobre la cantidad de cenizas en hojas de sen, sin embargo se podría deber a componentes inorgánicos presentes.

Los resultados indican que la muestra analizada por HPLC-MS presenta entre sus componentes: ácidos orgánicos, catequinas y sus derivados, flavonoides y alcaloides. En este último grupo, se detectaron alcaloides de tipo apurínicos (Laurotetanine (isomer 1), Corydine, Laurotetanine (isomer 1), Isocorydine) y sus derivados. Estos metabolitos son responsables de las actividades laxantes, estimulantes, propulsoras gastrointestinales y tienen actividad de contracción del músculo liso [4,70].

Estos hallazgos se debe a que las semillas de linaza gracias a su composición química presentan un efecto laxante y emoliente (fibra insoluble y el aceite graso), además de ello, también presenta un efecto antiinflamatorio (ácido eicosapentanoico inhibe a los neutrófilos y el ácido linolénico, reduce la producción de ácido araquidónico), cardioprotector (ácidos grasos insaturados, que disminuye los niveles glucosa y colesterol) y antitumoral (lignanos que tienen propiedades antimicóticas, antiestrogénicas y antioxidantes) [22,31,32].

Se detallan además algunos flavonoides como los compuestos Isorhamnetin-3-O-Glucoside, Isorhamnetin-3-O-rutinoside, Rhamnetin 3-(4- rhamnosylrhamnoside), Astragalin 7-rhamnoside, Isorhamnetin 3-O-[hexosyl-(1→4)- hexoside]. El fruto de pitahaya en su composición química contiene flavonoides y antocianinas [28-30], teniendo un efecto laxante e hipocolesterolémico, debido a que reduce el nivel de colesterol en el torrente sanguíneo [33-35].

El fruto de pitahaya posee en su composición química carbohidratos (en los que destaca los oligosacaridos que serán el principal principio activo), grasas y proteínas [34]. Además, la linaza tiene una concentración de 30 % de fibra insoluble y la pitahaya en concentración de 20% al 30% dependiendo de la especie [34,71]. Este biopolímero de cadenas ramificadas de mono glucósidos, es el responsable de aumentar el tamaño de las heces y reducir la duración en el tránsito intestinal [71].

Se describen también las antraquinonas, entre ellas principalmente los senósidos A, B y C (principio activo de las hojas de sen), encargados de la actividad laxante, pertenecientes a los compuestos: Sennoside A, Sennoside B (isomer 1) , Sennoside C, Sennoside B (isomer 2) y Monorhein, respectivamente. El compuesto mejor caracterizado y encargados de la actividad laxante es el O-glucósido de diantrona, presente principalmente en las hojas es el principio activo [38]. La especie *Cassia angustifolia* es la especie vegetal endémica de Sudamérica que presenta mayor cantidad de Sennoside A y Sennoside B [72]. El mecanismo de acción consiste en inhibir las contracciones en el colon proximal y, a su vez, reduce el tiempo de paso del contenido luminal y la absorción de agua, lo que da como resultado un

tránsito acelerado del contenido luminal en el colon distal [73]. Adicionalmente podría activar los macrófagos en el colon para secretar prostaglandina E2 (PGE2), que a su vez actuaba como un factor paracrino para regular negativamente los niveles de acuaporinas en los epitelios de la mucosa del colon inhibiendo en consecuencia el transporte de agua del lumen a la sangre y provocando la defecación [73].

Los valores obtenidos con respecto a la caracterización fisicoquímica del formulado. Como se puede evidenciar no hay estándares referenciales con los que podamos comparar debido a que los valores son propios del formulado. Podemos notar que la densidad se encuentra con un valor de 1.01 g/mL. Esto se debe a la cantidad presente de mucílagos en la linaza. Por otro lado, el pH ligeramente ácido también se encuentra relacionado con los compuestos propios del fruto de pitahaya y las semillas del sen. Finalmente, el valor de sólidos totales es debido a que durante la evaporación del agua, son únicamente los polisacáridos lo que quedan presentes [22]. Por otro lado, los resultados obtenidos durante el análisis microbiológico son conformes a la especificación requerida según los parámetros descritos por la normativa para Suplementos Nutricionales y Dietéticos según la USP del año 2021 [46].

En estudios previos realizados por Mohanta Bulu, menciona que la linaza es un material seguro y no presenta toxicidad aguda a las dosis de 50-2000 mg/Kg [74]. Por otro lado Mitchell JM, menciona que el sen no es cancerígeno incluso después de la administración diaria durante 2 años en dosis de hasta 300 mg/Kg/día en ratas Sprague-Dawwley) [75]. Y Hor Sook, recalca que el fruto de la pitahaya no presenta toxicidad subcrónica o aguda en dosis de 1250-5000 mg/kg/día) [76]. Debido a los datos antes mencionados y considerando que las plantas investigadas de interés (mismas que forman parte del formulado), no presentan toxicidad a la dosis sugerida por lo cual el presente trabajo de investigación, se procedió a evaluar únicamente la toxicidad aguda por vía oral.

Cómo se evidencia el formulado de extracto acuoso no presenta mortalidad en las dosis ensayadas en los catorce días de observación. La DL_{50} del formulado administrado por vía oral es mayor a 5000 mg de producto/Kg de peso corporal ($DL_{50} > 5,0$ g/Kg de peso corporal). Además, según lo indicado en la Tabla 15 se evidencia que no se presentan alteraciones en

los sistemas evaluados en las dos dosis ensayadas y en la tabla 16, se evidencia que los grupos a los que se les aplicó necropsia no presentan daños ni alteraciones en los órganos de los sistemas respiratorio, digestivo, cardiovascular, urogenital, sistémico y a nivel de la piel, en las dosis ensayadas incluyendo la repetición.

Los medicamentos a base de recursos vegetales pueden ejercer beneficios, como se sugiere con el formulado, por lo que es conveniente demostrar que presenta efecto sobre el proceso laxativo en los modelos establecidos. La prueba de toxicidad oral aguda mostró que incluso a una dosis de 5000 mg/Kg de formulado administrado a las ratas, no se produce toxicidad. El factor limitante puede atribuirse al componente más tóxico de la formulación, que es el sen. Esto debido a que estudios previos realizados mencionan que el sen o también como senna, aún en dosis normales puede ocasionar cólicos abdominales y en el uso prolongado podría ocasionar diarrea con pérdida de potasio y disminuir la concentración de globulinas séricas [77].

Para ello se ha creído conveniente mencionar que un estudio realizado por Soto A, en el año 2019, menciona que los laxantes estimulantes aumentan la peristalsis del colon y la secreción intestinal. Dividiéndose en dos grupos: Difenilmetanos y antraquinonas. La sena se encuentra dentro del segundo grupo y el picosulfato sódico se encuentra dentro del primer grupo, es decir, dentro del grupo de difenilmetanos. Estos laxantes son glucósidos inactivos que no se absorben en el intestino delgado y son hidrolizados en el colon por las glucosidasas generando metabolitos activos los cuales incrementan las ondas propulsivas y la secreción del colon [78]. Como se evidencia ambos laxantes (el picosulfato de sodio y el sen) son de tipo estimulante. Sin embargo, se puede inferir que se está aumentando un mayor contenido de peso en las heces al igual que el porcentaje de agua fecal, dado a que en el caso del formulado se está potenciando el efecto del sen con otros dos laxantes formadores de masa, como es el caso de las semillas de linaza y el fruto de pitahaya.

El uso de loperamida como agente inductor del estreñimiento está definido ya que es un agente antidiarreico agonista opioide que inhibe la secreción intestinal de agua y el peristaltismo colónico [79]. La justificación del uso de este fármaco se debe a que en base a la revisión literaria se ha evidenciado que la administración de 2 a 5 mg/kg de peso corporal

de loperamida por vía oral durante 3 a 7 días puede inducir con éxito el estreñimiento en roedores [80,81].

En el presente trabajo de investigación, la administración oral del formulado a base de extracto acuoso de semillas de linaza, fruto de pitahaya y hojas de sen fue eficaz para aumentar el porcentaje de contenido de agua fecal. Se puede determinar que efectivamente el formulado presenta la actividad laxante esperada, dado a que como se evidencia, existe una diferencia significativa (*p < 0.05) entre cada una de las dosis y el grupo control. Además, se demuestra que a mayor cantidad de dosis aumenta significativamente el peso de las deposiciones y el porcentaje de agua de los mismos.

Los resultados presentados para el modelo con ratas constipadas con loperamida, demuestra que al igual que con el modelo de ratas normal, a dosis de 100 y 250 g de muestra/Kg de peso corporal, los animales presentan diferencias significativas (*p<0.05) con respecto al grupo control. El efecto más alto se observó en el grupo al que se dosifica el fármaco laxante (picosulfato de sodio) (4.39 ± 0.54 , P<0,05). Este resultado puede deberse a que como ya se mencionó antes el picosulfato de sodio se encuentra dentro de la clasificación de los laxantes de tipo estimulante, ejerciendo efecto en el tracto gastrointestinal por medio de la inducción de peristalsis colónica o la secreción de fluidos o electrolitos [82]. Sin embargo, el formulado contiene tres extractos acuosos, mismos que se encuentran clasificados de la siguiente manera:

La linaza y la pitahaya se encuentra clasificada como laxante formador de masa, por lo cuál su función es aumentar el volumen del bolo fecal, estimulando la actividad motora del colon, siendo una fibra soluble presentando una buena capacidad de hidratación e hinchamiento [23,25]. Esto gracias a que presenta mucílagos que ayudan al peristaltismo, regularizando de esta manera el tránsito intestinal [26].

El sen, pertenece a los laxantes estimulantes, ya que estimulan la motilidad intestinal debido a que inhiben la absorción de electrolitos y agua, facilitando la evacuación de las heces [26]. Actúa como profármaco, es decir, son inactivos, pero posterior a la administración liberan aglicones (antraquinonas, diantronas), que son la forma activa. El efecto laxante presenta un

periodo de latencia de 6-12 horas, tiempo necesario para que los heterósidos hidroxiantraceno que no fueron absorbidos en el tracto digestivo, alcancen el colon y se liberan por acción de enzimas de la microbiota intestinal activando la actividad motora [23-26].

Se puede determinar y concluir que basándose en los resultados adquiridos que en dosis de 100 y 250 g de muestra/Kg de peso corporal en el modelo con ratas normales, se presenta la actividad laxante esperada.

6. CONCLUSIÓN

- Se identificaron las muestras las cuales pertenecen a las semillas de linaza corresponden a *Linum usitatissimum*, las hojas de sen corresponde a la especie *Cassia angustifolia* y el fruto de pitahaya corresponde a la especie *Hylocereus undatus*.
- Se determina las características fisicoquímicas de la materia prima vegetal utilizada, entre ellos se destacan los valores de porcentaje para la humedad residual y la cantidad de cenizas, encontrándose bajo los parámetros previamente establecidos.
- Se identifican los metabolitos secundarios presentes en el fitofármaco desarrollado, utilizando HPLC-MS. Entre sus componentes se destacan: Antraquinonas, entre ellas principalmente los compuestos Sennoside A, Sennoside B (isomer 1) , Sennoside C, Sennoside B (isomer 2) y Monorhein. Además también están presentes algunos ácidos orgánicos, catequinas y alcaloides. En este último grupo, se detectaron alcaloides de tipo apurínicos (Laurotetanine (isomer 1), Corydine, Laurotetanine (isomer 1), Isocorydine) y sus derivados. Se detallan además algunos flavonoides como los compuestos Isorhamnetin-3-O-Glucoside, Isorhamnetin-3-O-rutinoside, Rhamnetin 3-(4- rhamnosylrhamnoside), Astragalín 7-rhamnoside, Isorhamnetin 3-O-[hexosyl-(1→4)- hexoside].
- Se determinan las características organolépticas y fisicoquímicas del fitofármaco líquido desarrollado y además al realizar el recuento microbiano se encuentra que los resultados son conforme a la especificación requerida según los parámetros descritos por la normativa para Suplementos Nutricionales y dietéticos del año 2021 de la USP.

- Se determina que el formulado no presenta toxicidad en los animales expuestos por la vía oral con ningún tipo de alteración al término de los 14 días a nivel de los sistemas: músculo esquelético, digestivo, respiratorio cardiovascular, urogenital, piel y sistémico.
- Se determina además que el formulado presenta actividad laxante en ratas normales por vía oral a las dosis ensayadas de 100 y 500 mg/Kg de peso corporal. Y en el caso de la actividad laxante en ratas constipadas con loperamida por vía oral a las dosis ensayadas de 100 y 250 mg/Kg.

7. LIMITACIONES

En el año 2010 Ozdil [83] reporta un caso clínico donde se menciona que los senósidos A y B podrían inducir colitis hemorrágica con regresión espontánea después de la interrupción. Sin embargo, en el año 2018 un estudio realizado por Vilanova-Sanchez [84], presenta información sobre las ampollas perineales asociadas con Senna, así como otros efectos secundarios del uso a largo plazo de laxantes de sena en niños. Concluyeron que tiene un bajo riesgo de efectos secundarios adversos y es seguro usarlo bajo supervisión médica, con efectos adversos incluso leves que se autolimita con la suspensión de Senna.

Estudios realizados por Biernacka-Wawrzonek en el año 2017 [85] y por Cheng en el año 2020 [86] han demostrado que el uso a largo plazo de laxantes de antraquinona para tratar el estreñimiento podría causar melanosis *coli*, caracterizada por la presencia de pigmentos marrones inespecíficos en los macrófagos de la lámina propia y la submucosa colónica, que se ha relacionado con un mayor riesgo de cáncer colorrectal. Además informaron daños graves en el colon, incluida la reducción de células caliciformes y la infiltración de células inflamatorias en la cripta, después de la administración oral de antraquinona de ruibarbo (el contenido de senósidos A es del 4,56%) durante 90 días. Demostraron además que el metabolito reina, pero no el senósido A como tal, podía inducir autofagia y apoptosis en células de colon normales, lo que podría conducir a la formación de melanosis coli [86].

Actualmente, hasta el momento no hay evidencia sólida que respalde el vínculo entre la exposición a sen, extractos de sen o senósidos y la formación de tumores en modelos de roedores. Ya que, por ejemplo, estudios previos realizados por Surh en el año 2013 [87] mencionan que no se observaron cambios neoplásicos intestinales en ratones de tipo salvaje y P53 ^{+/-} con la administración de sen (0,7 % senósido A) en las dietas [87]. Además otro estudio realizado por Borrelli [88] menciona que no se observaron cambios neoplásicos o tumores en ratas Wistar macho después de la administración oral de extractos de sen (30 o 60 mg/kg) 6 veces por semana durante 110 semanas [88].

Es por ese motivo que el presente trabajo de investigación empleó concentraciones mínimas de sen para la elaboración del fitofármaco líquido. Ya que aún no se ha confirmado que el uso a largo plazo de senósidos en dosis altas inducen hiperplasia intestinal y aumenta el riesgo potencial de causar melanosis coli y cáncer de colon posterior [73].

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bharucha AE, Pemberton JH, Locke GR. American Gastroenterological Association technical review on constipation [Internet]. *Gastroenterology*. 2013 Jan [cited 2023 May 15]; 144(1):218-38. Disponible en: <https://n9.cl/youhw>
2. Day M. Constipation: epidemiology, assessment and treatment options [Internet]. 2017 April [cited 2023 May 15]. Disponible en: <https://n9.cl/qbcq7>
3. Costilla VC, Foxx-Orenstein AE. Constipation: Understanding Mechanisms and Management [Internet]. Elsevier; 2015 [cited 2023 May 15]; 30(1):107–15. Available from: <https://n9.cl/l5ys3>
4. Tessema MY, Wubneh ZB, Asrie AB. Laxative Activities of 80% Methanolic Extract of the Leaves of *Grewia ferruginea* Hochst Ex A Rich in Mice. *J Evid Based Integr Med* [Internet]. 2020 [Citado 7 de Marzo del 2024];25:2515. Disponible en: <https://n9.cl/3gdqw>
5. Alonso Osorio MJ, Estreñimiento: Tratamiento y definición [Internet]. 2020 [cited 2023 May 15]; 6(584):18-23. Available from: <https://n9.cl/ir4qv>
6. Mearin F, Ciriza C, Mínguez M, Rey E, Mascort JJ, Peña E, et al. Guía de práctica clínica: síndrome del intestino irritable con estreñimiento y estreñimiento funcional en adultos: concepto, diagnóstico y continuidad asistencial. (Parte 1 de 2) [Internet]. 2017 [cited 2023 May 15]; 43(1):43–56. Available from: <https://n9.cl/b3a1k>
7. Villar Chávez AS. Estreñimiento secundario: ¿Cuáles son las causas? In: Valdovinos Diaz MA, Coss Adame E, Gómez Escudero O, Yamamoto Furusho JK, editors. Estreñimiento crónico, síndrome de intestino irritable y enfermedad inflamatoria intestinal México: Permanyer; 2020. p. 22-25. Available from: <https://n9.cl/gxob8>
8. Shmulson M, Olden K, Aguilar L, Consenso Latinoamericano de Estreñimiento Crónico. *Elsevier* [Internet]. 2008 [Citado 2023 Dic 12]; 31(2):59-74. Disponible en: <https://n9.cl/72u5i>
9. Włodarczyk J, Waśniewska A, Fichna J, Dziki A, Dziki Ł, Włodarczyk M. Current Overview on Clinical Management of Chronic Constipation. *J Clin Med* [Internet]. 2021 Apr 16 [Citado 19 de abril del 2023];10(8):1738. Disponible en: <https://n9.cl/7eqhi>

10. Sharma A, Rao S. Constipation: Pathophysiology and Current Therapeutic Approaches. 2017; 239:59–74. Sharma, A., & Rao, S. (2017). Constipation: Pathophysiology and Current Therapeutic Approaches. *Handbook of experimental pharmacology*, 239, 59–74. <https://n9.cl/sug13>
11. Mearin F, Ciriza C, Mínguez M, Rey E, Mascort JJ, Peña E, et al. Guía de práctica clínica: síndrome del intestino irritable con estreñimiento y estreñimiento funcional en adultos: concepto, diagnóstico y continuidad asistencial. (Parte 1 de 2) [Internet]. 2017 [cited 2023 May 15]; 43(1):43–56. Available from: <https://n9.cl/b3a1k>
12. Parra P. Tamizaje fitoquímico y determinación de la actividad laxante de tallos y semilla de pitahaya (*Hylocereus undatus*). Repositorio universitario [Internet]. 2010 [Citado 2023 Dic 12]. Disponible en: <https://n9.cl/59x0op>
13. Gruszycki M, Tauguinas A, Baez M, Alba D, Gruszycki A. Importancia de la farmacovigilancia en medicina herbaria. *Rev Cubana Plant Med* [Internet]. 2017 Mar [Citado 17 de febrero del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/3kcw6>
14. Bashir A, Sizar O. Laxatives. 2022 Oct 13. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan–. PMID: 30725931. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30725931/>
15. Benedi J, Romero C. Laxante [Internet]. *Elsevier* 2017 Jul [Citado 19 de abril del 2023]; 20(7): 44-50. Disponible en: <https://n9.cl/yxw0t>
16. Barberio B, Judge C, Savarino EV, Ford AC. Global prevalence of functional constipation according to the Rome criteria: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2021 March [citado 2023 May 3]; 6(8):638-648. Disponible en: <https://n9.cl/m82goa>
17. Soares NC, Ford AC. Prevalence of, and risk factors for, chronic idiopathic constipation in the community: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2011 Sep; [Citado 09 de marzo del 2023] 106(9):1582-91; 1581, 1592. Disponible en: <https://n9.cl/shro4>
18. Jang SH, Yang DK. The combination of *Cassia obtusifolia* L. and *Foeniculum vulgare* M. exhibits a laxative effect on loperamide-induced constipation of rats. *Pubmed* [Internet]. 2018 [Citado 2023 Dic 24];13(4). Disponible en: <https://n9.cl/rxmho>

19. Peeranuch M, Kant W, Wandee G & Wit V. Laxative effectiveness of *Cassia Angustifolia* in Thai constipated patients. J. Pharmaceutical Sciences [Internet]. 2013 [Citado 2023 Dic 12]; 38(1):72. Disponible en: <https://n9.cl/hxvkt>
20. Hor S, Ahmad M, Farsai E, Yam M, Safety assessment of methanol extract of red dragon fruit *Hylocereus polythizus*: Acute and subchronic toxicity studies. Elsevier [Internet]. 2012 [citado 2023 Dec 24];63(1):106-114: Disponible en: <https://n9.cl/5frf8>
21. Jauregui K, Leon M, Efecto laxante del extracto hidroalcohólico del exocarpo del fruto de *Hylocereus megalanthus* (pitahaya) en ratones albinos. Repositorio universitario UMA [Internet]. 2018 [Citado 2023 Dic 24]. Disponible en: <https://n9.cl/ppfyj>
22. Zhañay M, Evaluación farmacognóstica y preclínica de la actividad laxante en la semilla de linaza (*Linum usitatissimum*). UTMACH [Internet] 2014. [Citado 11 de febrero del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/Oise9>
23. Kim JE, Yun WB, Lee ML, Choi JY, Park JJ, Kim HR, et al. Synergic Laxative Effects of an Herbal Mixture of Liriope platyphylla, Glycyrrhiza uralensis, and Cinnamomum cassia in Loperamide-Induced Constipation of Sprague Dawley Rats [Internet]. *Journal of medicinal food*; 2019 [cited 2023 May 15]; 22(3):294–304. Available from: <https://n9.cl/0wqgl>
24. Alonso Osorio MJ, Manejo y tratamiento del estreñimiento [Internet]. 2019 [cited 2023 May 15]; 5(577):22-27. Available from: <https://n9.cl/gnjup>
25. Serra J, Mascort-Roca J, Marzo-Castillejo M, Delgado Aros S, Ferrándiz Santos J, Rey Diaz Rubio E, et al. Guía de práctica clínica sobre el manejo del estreñimiento crónico en el paciente adulto. Parte 1: Definición, etiología y manifestaciones clínicas. *Gastroenterología y hepatología* [Internet]. 2017 [cited 2023 May 15]; 40(3):132–41. Available from: <https://n9.cl/ki3c1>
26. López Luengo M, Plantas de acción laxante en el tratamiento del estreñimiento primario. *Elsevier* [Internet]. 2020 Jan [citado 2023 Mar 17]; 19(3):118.123. Disponible en: <https://n9.cl/afsno>
27. López GZ, Fernández SA, González ET. Tratamiento del estreñimiento inducido por opiáceos en paciente adulto terminal [Internet]. SEAPA (Sociedad de Enfermería de Asturias de Atención Primaria); 2018 [cited 2023 May 15]; 6(1):32–46. Available from: <https://n9.cl/exvb>

28. Cañete Sera N, Martínez Aguilar Y, Más Toro D, Ruiz Corrales C, Inducción de diarrea metabólica con aceite ricino en aves neonatales. *Rev. prod. anim.* [Internet]. 2018 [citado 2023 Mar 17]; 30(3): 63-65. Disponible en: <https://n9.cl/isign>
29. Farmacopea argentina [Internet]. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Ministerio de Salud de la Nación, 2003 [cited 2023 May 15]. Available from: <https://n9.cl/u96o4>
30. Charco Cumandá M, Evaluación del extracto hidroalcohólico de *Passiflora tripartita*. y pre formulación de jarabe [Internet] 2017 [cited 2023 May 15]. Available from: <https://n9.cl/gqga6>
31. Arango M, Plantas medicinales: botánica de interés médico [Internet]. Manizales, Colombia; 2006 [Citado 11 de febrero del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/xy1bu>
32. Serván A, Interés farmacéutica de los mucílago. US [Internet]. 2018 [Citado 11 de febrero del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/pmno8>
33. Chino Huilca Y, Composición química y efecto terapéutico de pitahaya (*Hylocereus undatus*) [Internet]. 2020 [cited 2023 feb 25]; 43(1):43–56. Available from: <https://n9.cl/qb8u7>
34. Verona-Ruiz A, Urcia-Cerna J, Paucar-Menacho LM, Verona-Ruiz A, Urcia-Cerna J, Paucar-Menacho LM. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): Cultivo, características fisicoquímicas, composición nutricional y compuestos bioactivos [Internet]. Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de Ciencias Agropecuarias; 2020 [cited 2023 May 15]; 11(3):439–53. Available from: <https://n9.cl/v19tb>
35. Trujillo D, Microorganismos asociados a la pudrición blanda del tallo y manchado del fruto en el cultivo de pitahaya amarilla en Ecuador. Tumbaco - Pichincha. UCE [Internet]. 2014 [Citado 11 de febrero del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/b36h6>
36. Castañeda R, Gutiérrez H, Carrillo É, Leguminosas (*Fabaceae*) silvestres de uso medicinal del distrito de Lircay, provincia de Angaraes (Huancavelica, Peru). Blacma [Internet]. 2017 [Citado 19 de febrero del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/d14i9>
37. León H, Inventario florístico del sector de buga bajo del bosque de paquiestancia Cayambe - Ecuador. UPS [Internet]. 2008 [Citado 19 de abril del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/fayzo>
38. De Witte P. Metabolism and pharmacokinetics of anthranoids [Internet]. *Pharmacology*. 1993 Oct [Citado 19 de abril del 2023];47 Suppl 1:86-97. Disponible en: <https://n9.cl/qxy5b9>

39. García-Zermeño KR, Remes-Troche JM. Constipación crónica. Conceptos actuales desde la fisiopatología hasta el tratamiento. *Gastroenterol Latinoam* [Internet]. 2021 [Citado 08 de julio del 2024]; 51(1):14-28. Disponible en: <https://n9.cl/msvji>
40. Sperber AD, Bangdiwala SI, Drossman DA, Ghoshal UC, Simren M, Tack J, Whitehead WE, Dumitrascu DL, Fang X, Fukudo S, Kellow J, Okeke E, Quigley EMM, Schmulson M, Whorwell P, Archanpong T, Adibi P, Andresen V, Benninga MA, Bonaz B, Bor S, Fernandez LB, Choi SC, Corazziari ES, Francisconi C, Hani A, Lazebnik L, Lee YY, Mulak A, Rahman MM, Santos J, Setshedi M, Syam AF, Vanner S, Wong RK, Lopez-Colombo A, Costa V, Dickman R, Kanazawa M, Keshteli AH, Khatun R, Maleki I, Poitras P, Pratap N, Stefanyuk O, Thomson S, Zeevenhooven J, Palsson OS. Worldwide Prevalence and Burden of Functional Gastrointestinal Disorders, Results of Rome Foundation Global Study. *Gastroenterology* [Internet]. 2021 [Citado 08 de julio del 2024] Jan;160(1):99-114.e3. Disponible en: <https://n9.cl/j2su4>
41. Suarez MO. interaprendizaje de Estadística Básica. 2nd ed. Vol. 1. Ibarra: ISBN; 2018. 14–16 p.
42. DIGESA. Norma técnica de salud: Gestión integral y manejo de residuos sólidos en establecimientos de salud, servicios médicos de apoyo y centros de investigación [Internet]. Perú: Lima; 2018 [Citado 11 de marzo del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/2jwtr>
43. Urbina A, Elaboración de un fitofármaco sólido con propiedades adelgazantes preparado con diferentes dosis a base de alcachofa (*Cynara cardunculus var scolymus*), jengibre (*Zingiber officinale*) Y apio (*Apium graveolens*) administrado a personas para comparar su eficacia. Riobamba - Ecuador. UCE [Internet]. 2012 [Citado 17 de febrero del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/o982t>
44. Daste C, Control de calidad en la Industria farmacéutica. Quito - Ecuador [Internet]. 2015 Mar [Citado 11 de marzo del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/8zk6w>
45. Villegas Vilchez LF, Ascencios JH, Dooley TP. Prophylaxis and Treatment of Inflammation with Pentacyclic Chemotype of *Uncaria tomentosa* [Internet]. *Integr Med (Encinitas)*. 2023 Jul [Citado 11 de agosto del 2023];22(3):22-27. Disponible en: <https://n9.cl/qhdo7>

46. Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 42. Formulario nacional NF 37 [Internet]. USP. 2019 [Citado 21 de agosto del 2023];37(4):6462-6473.
47. Maturin L, Peeler J. BAM Chapter 3; Aerobic Plate count [Internet]. Disponible en: <https://n9.cl/spheno>
48. Tournas V, Stack M, Mislivec P, Koch H, Blander R. BAM Chapter 18_ Yeast, Molds and Mycotoxins [Internet]. Disponible en: <https://n9.cl/hmubrx>
49. AOAC: Official Methods of Analysis (Volume 1). Disponible en: <https://n9.cl/7qwx8>
50. Tallent S, Hait J, Bennett W, Lancette G. BAM Chapter 12: Staphylococcus aureus [Internet]. Disponible en: <https://n9.cl/5ywmw>
51. OECD. Guideline for testing of chemicals. 2001. Guideline 423: Acute oral toxicity. Acute Toxic Class method 2001.
52. Motilal Bairagi Shripad, Pathan Inayat B., Nitin Nema. Evaluation of diuretic and laxative activity of aqueous extract of *Argemone mexicana* leaves in rats. *Ars Pharm* [Internet]. 2017 Jun [citado 2023 Mar 17]; 58(2): 53-58. Disponible en: <https://n9.cl/0tyh9>
53. Ayele AG, Mulugeta B, Wondmkun YT. Evaluations of the *in vivo* laxative effects of aqueous root extracts of *Euclea racemosa* L. in mice. *Metabol Open* [Internet]. 2022 Dec [Citado 11 de marzo del 2023]; Disponible en: <https://n9.cl/pxzb4>
54. Golla U, Gajam PK, Bhimathati SS. Evaluation of diuretic and laxative activity of hydro-alcoholic extract of *Desmostachya bipinnata* (L.) Stapf in rats. *J Integr Med*. 2014 Jul;12(4):372-8. Disponible en: <https://n9.cl/32ge7>
55. Russell W, Burch R. The three Rs [Internet]. 1992 [Citado 27 de diciembre del 2023]; Disponible en: <https://n9.cl/uo04c>
56. Kiani AK, Pheby D, Henehan G, Brown R, Sieving P; INTERNATIONAL BIOETHICS STUDY GROUP. Ethical considerations regarding animal experimentation. *J Prev Med Hyg* [Internet]. 2022 [Citado 11 de marzo del 2023]; 17;63(2):255-266. Disponible en: <https://n9.cl/0wi44>
57. Levy A, M, y Baumans V. Euthanasia. Levy A,M; Tufik S. Animal models as tools in ethical biomedical research . São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 2010. P, 417-432.

58. Remine R, Anesthesia in laboratory animals [Internet]. Levy A,M; Tufik S. Animal models as tools in ethical biomedical research . São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 2010. P. 417-432.
59. DIGESA. Norma técnica de salud: Gestión integral y manejo de residuos sólidos en establecimientos de salud, servicios médicos de apoyo y centros de investigación [Internet]. Perú: Lima; 2018 [Citado 11 de marzo del 2023]. Disponible en: <https://n9.cl/2jwtr>
60. Alcantarà J, Atencio V, Comparativo de cinco fertilizantes complejos en el rendimiento del cultivo de lino (*Linum usitatissimum* L) en el centro experimental Huancayo- Huariaca – Pasco 201. Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión [Internet] 2019. [Citado 27 de mayo del 2024]. Disponible en: <https://n9.cl/73noj>
61. Khushali T, Patoliya J, Khushbu R, Nagaraja R, Rama R, Rushikesh J, Sena (*Cassia angustifolia* Vahl.): A comprehensive review of ethnopharmacology and phytochemistry. Elsevier [Internet] 2023. [Citado 27 de mayo del 2024]. Disponible en: <https://n9.cl/l8a2t>
62. Moller P, Leòn S. Catálogo de las plantas vasculares del Ecuador.Ecuador: Assistant; 1999 [5/11/2024].
63. OMS. Lista modelo de medicamentos esenciales 15va edición [Internet] 2007., O. M. [Citado 15 de agosto del 2024]. Disponible en: <https://n9.cl/ujpt0>
64. Bailey A, Aceite y grasa Industriales. Reverté [Internet]. 2020 [Citado 11 de noviembre del 2024] Jan;61(1):741-746. Disponible en: <https://n9.cl/dhaog5>
65. Velásquez Y, Uso del agua en pitahaya (*Hylocereus undatus*), bajo diferentes condiciones de humedad, sombra y tamaño de esqueje. Hidrociencias [Internet]. 2020 [Citado 11 de noviembre del 2024]. Disponible en: <https://n9.cl/9wn7v>
66. Ulises J, Biología y manejo postcosecha de pitahaya roja y amarilla (*Hylocereus* spp. y *Selenicereus* spp.). Agraria [Internet]. 2020 [Citado 11 de noviembre del 2024]. Disponible en: <https://n9.cl/p9jsr>
67. Kumar A, Sneha A, Satya K, Kiran G, Kotesesh J, Vljay K, Jnanesha A, Vinutha K. Optimisation of harvesting time and drying techniques for higher sennosides in *Cassia angustifolia* Vahl. by RP-HPLC. Elsevier [Internet]. 2023 [Citado 11 de noviembre del 2024]. Disponible en: <https://n9.cl/xcbf9>

68. Iturbe F, Sandoval J, *Análisis de Alimentos Fundamentos y técnicas*. Universidad autónoma de México [Internet]. 2011 [Citado 11 de noviembre del 2024]. Disponible en: <https://n9.cl/fhuj9>
69. Angarita L, Lopez J, Parra K, Aparicio D, Céspedes V, Uzcategui M, Higuera A, Reyna N, Evaluación fisico-química de la fibra de linaza (*Linum usitatissimum L.*) y su efecto sobre la respuesta glucémica e insulínica de una bebida en adultos sanos. *Rev. Fac. Agron* [Internet]. 2015, 32:454-475 [Citado 11 de noviembre del 2024]. Disponible en: <https://n9.cl/sfsnqm>
70. Kim JE, Park JW, Kang MJ, Choi HJ, Bae SJ, Choi Y, et al. Laxative effect of spicatoside A by cholinergic regulation of enteric nerve in loperamide-induced constipation: ICR mice model. *Molecules* [Internet]. 2019 [Citado 18 de septiembre del 2024];24(5):896. Disponible en: <https://n9.cl/6fk9ps>
71. Calvi Lenzi de Almeida K, Spreafico Fernandes F, Teles Boaventura G, Angélica Guzmán-Silva M. EFFECT OF FLAXSEED (*Linum Usitatissimum*) ON THE GROWTH OF WISTAR RATS. Vol. 35, *Rev Chil Nutr*. 2008.
72. Khurm M, Wang X, Zhang H, Hussain SN, Qaisar MN, Hayat K, et al. The genus *Cassia* L.: Ethnopharmacological and phytochemical overview. Vol. 35, *Phytotherapy Research*. John Wiley and Sons Ltd; 2021. p. 2336–85.
73. Le J, Ji H, Zhou X, Wei X, Chen Y, Fu Y, et al. Pharmacology, Toxicology, and Metabolism of Sennoside A, A Medicinal Plant-Derived Natural Compound. Vol. 12, *Frontiers in Pharmacology*. Frontiers Media S.A.; 2021.
74. Mohanta B, Jyoti D, Mahanti B, Nayak A, In vivo acute toxicity, antidiabetic and antiulcer activities of polysaccharide from *Linum usitatissimum L.* seeds. *Elsevier* [Internet]. 2023 [citado 2023 dec 24]; 56(1):10-31. Disponible en: <https://n9.cl/ux3dz>
75. Mitchell JM, Mengs U, McPherson S, Zijlstra J, Dettmar P, Gregson R, Tigner JC. An oral carcinogenicity and toxicity study of senna (*Tinnevelly senna* fruits) in the rat. *Arch Toxicol* [Internet]. 2006 Jan [citado 2023 dec 24];80(1):34-44. Disponible en: <https://n9.cl/fp8rm>

76. Hor S, Ahmad M, Farsai E, Yam M, Safety assessment of methanol extract of red dragon fruit *Hylocereus polythizus*: Acute and subchronic toxicity studies. Elsevier [Internet]. 2012 [citado 2023 Dec 24];63(1):106-114: Disponible en: <https://n9.cl/5frf8>
77. Ramirez G, Sen (Cassia angustifolia Vahl). *Natura Medicatrix* [Internet]. 2003 [Citado 15 de agosto del 2024];21(6):342-344.
78. Soto A, Paso J, Manejo práctico del estreñimiento crónico. Primer escalón. *RAPD* [Internet]. 2019 [Citado 15 de agosto del 2024]. Disponible en: <https://n9.cl/irxps>
79. Liu W, Zhi A. The potential of Quercetin to protect against loperamide-induced constipation in rats. *Food Sci Nutr* [Internet]. 2021 [Citado 18 de septiembre del 2024];9(6):3297–307. Disponible en: <https://n9.cl/qzs6z>
80. Seo JY, Kim SS, Kim HJ, Liu K-H, Lee H-Y, Kim J-S. Laxative effect of peanut sprout extract. *Nutrition research and practice* [Internet]. 2013 [Citado 18 de septiembre del 2024];7(4):262–6. Disponible en: <https://n9.cl/lm32e>
81. Eggleston W, Palmer R, Dubé P-A, Thornton S, Stolbach A, Calello DP, et al. Loperamide toxicity: recommendations for patient monitoring and management. *Clin Toxicol* [Internet]. 2020 [Citado 18 de septiembre del 2024];58(5):355–9. Disponible en: <https://n9.cl/v2num>
82. Rao SSC, Rattanakovit K, Patcharatrakul T. Diagnosis and management of chronic constipation in adults. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2016 Apr 1 [Citado 15 de agosto del 2024];13(5):295–305. Disponible en: <https://n9.cl/igtscl>
83. Ozdil B., Kece C., Cosar A. Acute Hemorrhagic Colitis Following Administration of Sennosides for colon Cleansing. *Ann Pharmacother* [Internet]. 2010 [Citado 11 de febrero del 2025]; 44(4):770–771. Available from: <https://n9.cl/5bh9ux>
84. Vilanova-Sanchez A., Gasior A. C., Toocheck N., Weaver L., Wood R. J., Reck C. A., et al. Are Senna Based Laxatives Safe when Used as Long Term Treatment for Constipation in Children. *J. Pediatr. Surg* [Internet]. 2018 [Citado 11 de febrero del 2025]; 53(4):722–727. Available from: <https://n9.cl/wt5tx>

85. Biernacka-Wawrzonek D., Stępką M., Tomaszewska A., Ehrmann-Jósko A., Chojnowska N., Zemlak M., Melanosis Coli in Patients with colon Cancer. *Prz Gastroenterol* [Internet]. 2017 [Citado 11 de febrero del 2025]; 12(1):22–27. Available from: <https://n9.cl/z2ehs>
86. Cheng Y., Zhang H., Qu L., He Y., Routledge M. N., Yun Gong Y., et al. Identification of Rhein as the Metabolite Responsible for Toxicity of Rhubarb Anthraquinones. *Food Chem* [Internet]. 2020 [Citado 11 de febrero del 2025]. Available from: <https://n9.cl/jrt8sv>
87. Surh I., Brix A., French J. E., Collins B. J., Sanders J. M., Vallant M., et al. Toxicology and Carcinogenesis Study of senna in C3B6.129F1-Trp53 tm1Brd N12 Haploinsufficient Mice. *Toxicol Pathol* [Internet]. 2013 [Citado 11 de febrero del 2025]; 41(5):770–778. Available from: <https://n9.cl/y4wy9>
88. Borrelli F., Capasso R., Aviello G., Di Carlo G., Izzo A. A., Mascolo N., et al. Senna and the Formation of Aberrant Crypt Foci and Tumors in Rats Treated with Azoxymethane. *Phytomedicine* [Internet]. 2005 [Citado 11 de febrero del 2025]; 12 (6-7), 501–505. Available from: <https://n9.cl/mgguo>

ANEXOS

ANEXO 1: Identificación botánica de la materia prima.



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

CONSTANCIA-CIEA-007-01-24

El Presidente del Comité Institucional de Ética para el uso de Animales (CIEA) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia hace constar que el proyecto de investigación señalado a continuación fue **APROBADO** por el Comité de Ética.

Título del Proyecto : **“Desarrollo de un fitofármaco líquido a base de extracto acuoso de semillas de linaza, fruto de pitahaya y hojas de sen con actividad laxante”**

Código SIDISI : **211252**

Investigador(a) principal(es) : **Zavaleta Vargas, Alexandra Bright**

La aprobación incluyó los documentos finales descritos a continuación:

Protocolo de investigación, versión recibida en fecha 21 de febrero del 2024.

La **APROBACIÓN** considera el cumplimiento de los estándares de la Universidad, los lineamientos Científicos y éticos, el balance riesgo/beneficio, la calificación del equipo investigador y la Confidencialidad de los datos, entre otros.

Cualquier enmienda, desviaciones, eventualidad deberá ser reportada de acuerdo a los plazos y normas establecidas. El investigador reportará cada seis meses el progreso del estudio y alcanzará un informe al término de éste. La aprobación tiene vigencia desde la emisión del presente documento hasta el **20 de febrero del 2025**. Si aplica, los trámites para su renovación deberán iniciarse por lo menos 30 días previos a su vencimiento.

El presente proyecto de investigación sólo podrá iniciarse después de haber obtenido la(s) autorización(es) de la(s) institución(es) donde se ejecutará.

Si aplica, los trámites para su renovación deberán iniciarse por lo menos 30 días previos a su vencimiento.

Lima, 21 de febrero del 2024.



Dr. Manuel Gasco Tantachuco
Presidente
Comité Institucional de Ética para el Uso de Animales

/ crr

Av. Honorario Delgado 430
San Martín de Porres
Apartado Postal 4314
319 0000 Anexo 201355
orvel.clea@oficinas-upch.pe
cayetano.edu.pe

**Comité Institucional de Ética
para el uso de Animales**

ANEXO 2: Identificación botánica de la materia prima.



Herbario Alfredo Paredes (QAP)
Universidad Central del Ecuador



CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA

El suscrito director del **HERBARIO QAP DE LA UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR**, certifica que **Andrés Francisco Columba Peñafiel** y **Alexandra Brigit Zavaleta Vargas** solicitan el servicio de identificación taxonómica para dos muestras, las cuales contienen la siguiente información:

1. Nombre común reportado: Sen
Lugar de Colecta: 246.4 msnm
Coordenadas: No reporta
Altura sobre el nivel del mar: No reporta Fecha de Colecta: No reporta
2. Nombre común reportado: Pitahaya
Lugar de Colecta: Granados, Esperanza Baja, provincia de Huaral, departamento de Lima, Perú
Coordenadas: Latitud -11.416 y Longitud -77.234 Altura sobre el nivel del mar: 246.4 msnm
Fecha de Colecta: No reporta
3. Nombre común reportado: Linaza
Lugar de Colecta: Distrito de Cachachi, departamento de Cajamarca, Perú
Fecha de Colecta: No reporta

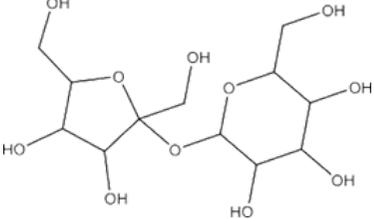
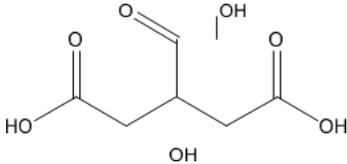
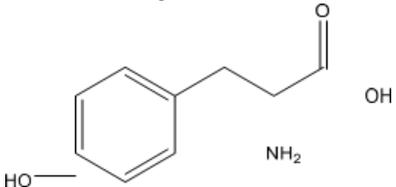
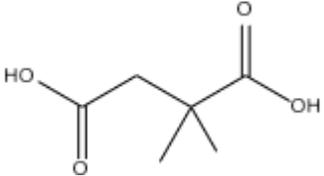
1. ***Cassia angustifolia*** Mill.
Familia Fabaceae, especie Introducida.
2. ***Hylocereus polyrhizus*** (F.A.C. Weber) Britton & Rose
Familia Cactaceae, especie Nativa.
3. ***Linum usitatissimum*** (Jan van Eyck)
Familia Linaceae, especie Nativa.

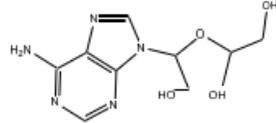
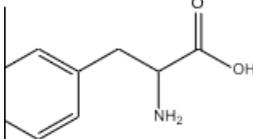
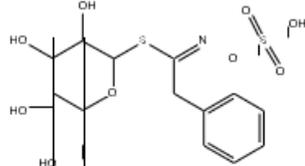
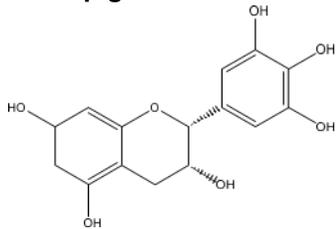
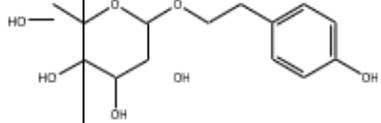
Se expide a solicitud de la interesada, a los 02 días del mes de mayo del 2023.

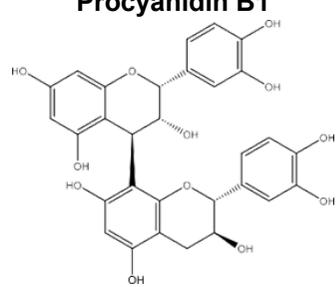
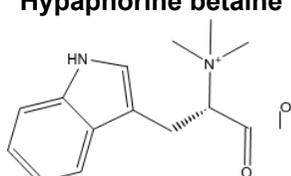
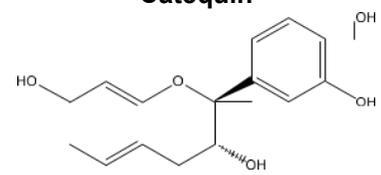

Dr. Carlos E. Ceron Martínez MSc.
DIRECTOR HERBARIO ALFREDO PAREDES (QAP)

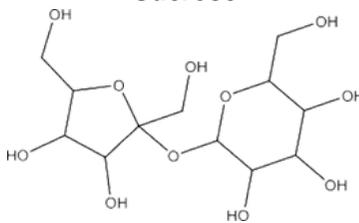
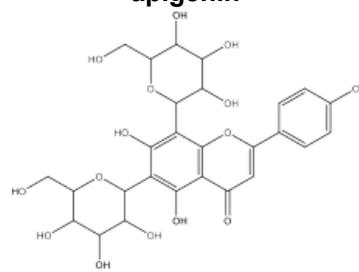
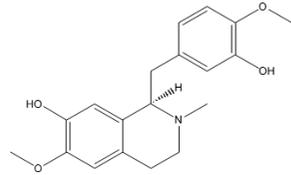
Carvajal y Gato Sobral, ciudad universitaria, edif. Facultad de Filosofía, 6to piso, ala norte.

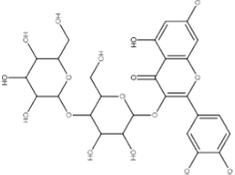
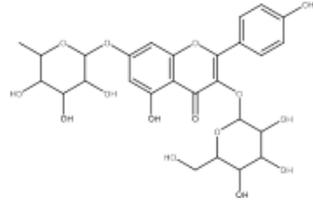
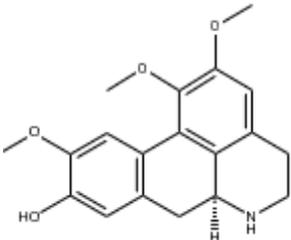
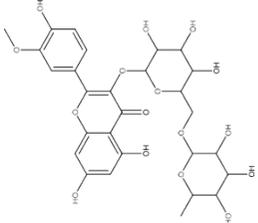
ANEXO 3: Relación de compuestos detectados mediante LC-MS en la muestra del formulado

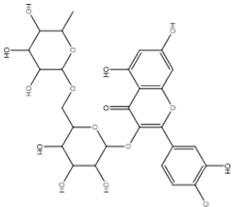
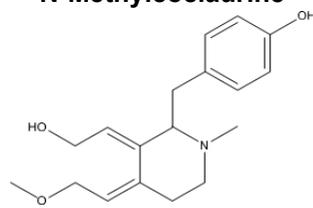
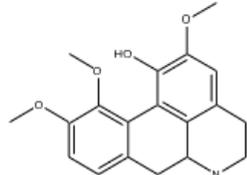
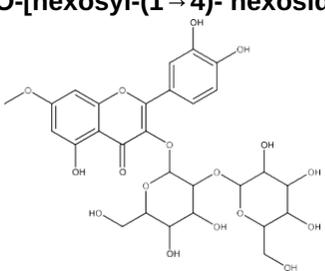
N°	tR (min)	MS-E SI-	MS ²	Error (ppm)	MS-ESI+	MS ²	Error (ppm)	Masa nominal del compuesto	Fórmula molecular	Estructura tentativa
1	1.35	341.1075	179.0554 161.0447 119.0340 113.0234 101.0233 89.0233 71.0127	0.97	360.1497 [M+NH ₄]	163.060 145.0495 127.0391 97.0288 85.0290 69.0341	-0.88	342	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	<p>Sucrose</p> 
2	1.95	191.0181	173.0075 129.0177 111.0072 87.0072 85.0280	2.56				192	C ₆ H ₈ O ₇	<p>Citric acid</p> 
3	1.95				182.0811	165.0547 147.0441 136.0758 123.0443 119.049 91.0547	0.11	181	C ₉ H ₁₁ NO ₃	<p>Tyrosine</p> 
4	1.96	147.0283	129.0178 103.0385 87.0072 85.0280 57.0332	3.47				148	C ₅ H ₈ O ₅	<p>Citramalic acid</p> 

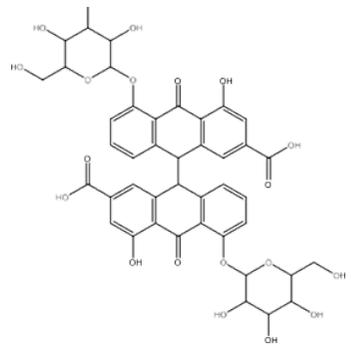
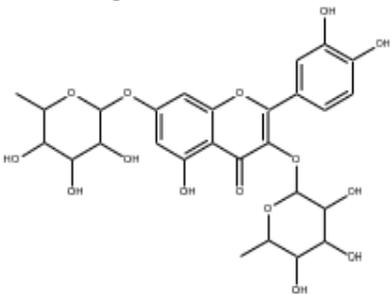
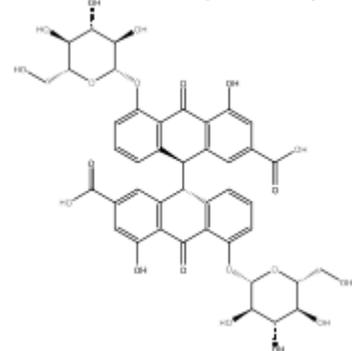
5	1.96				268.1039	136.0619 133.0493 119.0354 85.0290	0.45	267	C10H13N5O4	<p>Adenosine</p> 
6	2.49				166.0863	142.9672 131.0493 120.0811 103.0547 93.0704 79.0548	0.27	165	C9H11NO2	<p>Phenylalanine</p> 
7	3.05	408.04 06	300.2748 259.0109 195.0319 166.0317 138.9691 96.9585 74.9895	3.99				409	C14H19NO9S2	<p>Benzyl glucosinolate</p> 
8	3.17	305.06 52	261.0757 219.0646 179.0333 167.0335 165.0178 139.0384 137.0229 125.0229	-1.8			306		C15H14O7	<p>Epigallocatechin</p> 
9	3.88	318.15 48 [M+N H ₄]	265.1072 229.0865 205.0854 187.0759 145.0495 121.0650 85.0290	0.19			300		C14H20O7	<p>Salidroside</p> 

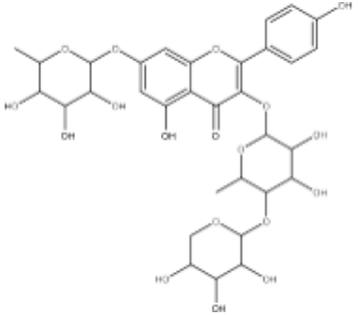
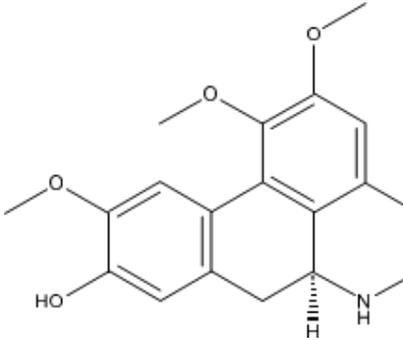
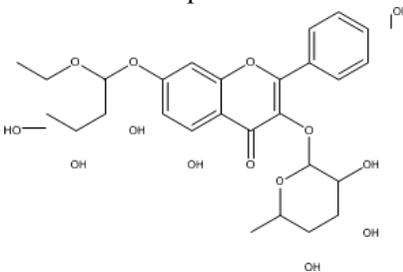
10	4.8	577.13 22	451.1005 425.0875 407.0746 289.0699 161.0226 125.0228	3.11			578		C30H26O12	<p>Procyanidin B1</p> 
11	5.69				247.1441	188.0708 170.060 146.0601 144.0809 118.065 60.0815	0.14	246	C14H18N2O2	<p>Hypaphorine betaine</p> 
12	6.17	289.07 02	245.0808 203.0701 179.0337 151.0387 137.0230 125.0228 123.0438 109.0281	1.74	291.0861	207.06 165.0545 161.0599 147.0440 139.0391	-0.67	290	C15H14O6	<p>Catequin</p> 
13	7.02				256.1907	238.1803 220.1697 202.1590 122.0967				<p>Unknown 1</p>
14	7.62	479.08 01	299.0178 255.0282 211.0384 163.0021 135.0069		498.124 [M+NH4]	319.0450 251.0187 209.0083 111.0445		470		<p>Unknown 2</p>

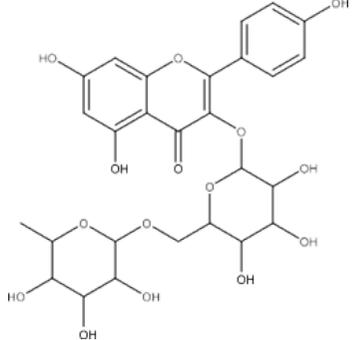
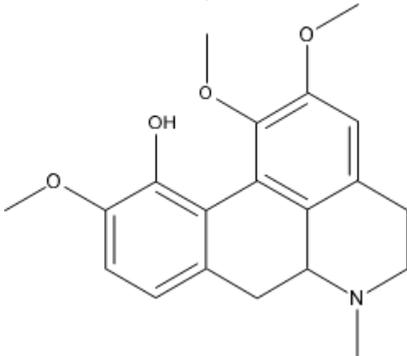
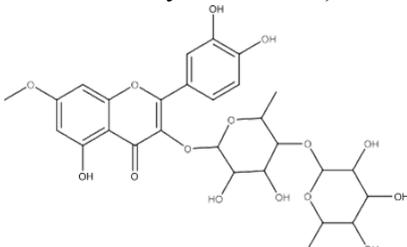
			91.0173							
15	7.8	395.00 46	359.0280 143.0330 68.3026	3.81	419.0038	238.9850 221.0188 149.0234	0.05		C12H19Cl3O8	<p>Sucrose</p> 
16	8.02	431.18 97	385.1840 343.2215 223.1323 205.1218 161.0442 153.0904							<p>Unknown 3</p>
17	8.20	593.14 79	503.1137 473.1057 383.0750 353.0643 297.0750	3.62	595.1663	577.1556 559.1445 457.1132 409.0923 379.0708 325.0708 295.0604 121.0287	0.96	594	C27H30O15	<p>8-C-Glucosyl-6-C-glucosyl apigenin</p> 
18	8.77				330.1702	299.1282 267.1011 192.1021 175.0754 151.0755 143.0493 137.0599	0.74	329	C19H23NO4	<p>Reticuline</p> 

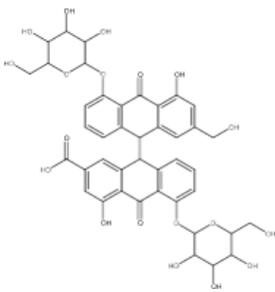
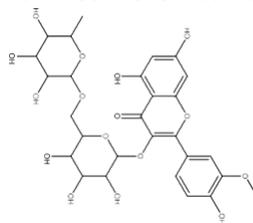
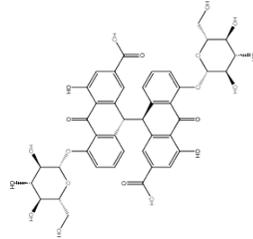
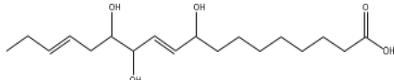
19	8.97	625.13 78	300.0255 271.0232 255.0284 243.0282 151.0021	3.46	627.1561	303.0522 229.0504 151.0499 85.0290	0.88	626	C27H30O17	<p>Quercetin 3-O-[hexosyl-(1 → 4)-hexoside]</p> 
20	9.36	593.14 82	447.0896 431.0956 430.0875 285.0387 283.0229 255.0284	3.21				594	C27H30O15	<p>Kaempferol-3-O-glucosyl-7-rhamnoside</p> 
21	9.34				328.1546	311.1280 296.1044 279.1018 264.0783 248.0783 236.0833 219.0807 191.0856	0.72	327	C19H21NO4	<p>Laurotetanine (isomer 1)</p> 
22	9.49	623.15 77	477.1005 461.1060 445.0730 313.0334 300.0258 285.0381 270.0153 242.0205	4.73	625.1764	463.1241 317.0660 302.0424 285.0396 153.0184 85.0290	0.13	624	C28H32O16	<p>Isorhamnetin-3-O-rutinoside</p> 

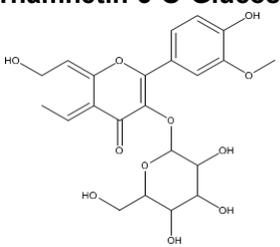
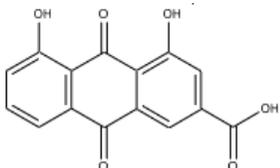
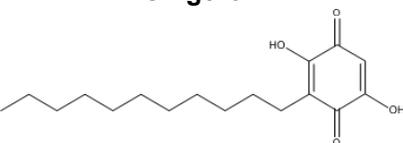
23	9.5	609.14 23	300.0264 285.0386 271.0239 255.0288 227.0288 151.0024	4.40	611.1613	303.0503 287.0553	1.08	610	C27H30O16	<p>Quercetin 3-o-rutinoside</p> 
24	9.54				300.1594	269.1173 237.0911 209.0965 192.1022 175.0756 143.0493 137.0599 107.0496	0.01	299	C18H21NO3	<p>N-Methylcoclaurine</p> 
25	9.61				342.1701	311.1281 296.1046 279.1019 264.0784 248.0834 236.0833 219.0805 191.0857	0.45	341	C20H23NO4	<p>Corydine</p> 
26	9.63	639.15 30	315.0491 300.0256 271.0231 255.0283 243.0282 227.0334 199.0380 151.0019	4.11	641.1716	317.066 302.0424 285.0393 274.0474 257.0446 229.0497 145.0497 85.0291	0.63	640	C28H32O17	<p>Isorhamnetin 3-O-[hexosyl-(1 → 4)- hexoside]</p> 

27	9.67	861.18 36	817.1961 699.1313 655.1431 537.0806 449.0997 447.0850	4.27				862	C42H38O20	<p>Sennoside A</p> 
28	9.8	593.14 79	460.0980 447.0897 313.0333 299.0176 285.0386 270.0156 242.0196	3.62	595.1661	463.1236 317.0660 302.0424 285.0394 274.0470 257.0445 229.0498	0.56	594	C27H30O15	<p>Astragalin 7-rhamnoside</p> 
29	9.94	861.18 35	817.1939 699.1309 537.0792 449.0981 447.0841 419.0895 389.0859 227.0332	4.41				862	C42H38O20	<p>Sennoside B (isomer 1)</p> 

30	9.84	709.19 48	563.1373 430.0867 283.0229 255.0282 227.0332	3.70				710	C32H38O18	<p>Kaempferol 3-xylosyl-(1->4)-rhamnoside-7-rhamnoside</p> 
31	9.89				328.1544	311.1281 296.1046 280.1097 265.0862 237.0912 255.0918	0.17	327	C19H21NO4	<p>Laurotetanine (isomer 2)</p> 
32	9.96	577.15 30	431.0953 285.0387 283.0230 255.0282	3.87				578	C27H30O14	<p>Kaempferitrin</p> 

33	10.0 1	593.14 78	285.0386 255.0282 227.0333 187.0385	3.92	595.1660	449.1100 287.0554 85.0291	0.34	594	C27H30O15	<p>Kaempferol-3-O-rutinoside</p> 
34	10.0 6				342.0702	311.1280 296.1045 280.1096 265.0861 253.0859 237.0911 225.0912	0.62	341	C20H23NO4	<p>Isocorydine</p> 
35	10.0 8	607.16 34	461.1058 315.0490 300.0259 285.0384 270.0154 242.0200	3.88	609.1818	463.1236 347.0658 302.0423 85.0290	0.70	607	C28H32O15	<p>Rhamnetin 3-(4-rhamnosylrhamnoside)</p> 

36	10.1 0	847.20 41	479.1084 418.0880 389.0855	4.61				848	C42H40O19	<p>Sennoside C</p> 
37	10.1 2	623.15 81	299.0179 285.0383 271.0233 255.0282 125.0228	4.05	625.1766	317.0658 302.0423 85.0290	0.13	624	C28H32O16	<p>Isorhamnetin-3-O-rutinoside</p> 
38	10.2 8	861.18 34	817.1961 699.1313 655.1431 537.0806 449.1001 447.0850 419.0904 389.0854 227.0334	4.48				862	C42H38O20	<p>Sennoside B (isomer 2)</p> 
39	12.9 3	327.21 69	291.1965 229.1443 211.1336 171.1020 97.0649 85.0285	0.80				328	C18H32O5	<p>9,12,13-Trihydroxy-10,15-</p> 

40	10.4 7	477.10 12	314.0416 299.0183 285.0378 271.0230 257.0434 243.0284	3.25	479.1187	302.0425 285.0393 229.0500 153.0185 85.0289	0.58	478	C22H22O12	Isorhamnetin-3-O-Glucoside 
41	14.9 1	283.02 33	257.0442 239.0335 211.0384	1.29				284	C15H8O6	Monorhein 
42	15.4 7	293.17 45	236.1038 221.1530 207.1381 192.1141	0.84				294	C17H26O4	Gingerol 
43	19.3 3	313.14 32	205.0860 149.0235 91.0548							<i>Contaminante plástico (ftalato)</i>
44	19.5 1	279.15 90	205.0860 149.0235 121.0287							<i>Contaminante plástico (ftalato)</i>

- Los valores de MS-ESI⁻ y MS-ESI⁺ corresponden a los aductos [M-H]⁻ y [M+H]⁺, respectivamente. En caso se trate de otro aducto, este se indicará dentro del mismo cuadro.
- *FA: Formic Acid

ANEXO 4: Resultados del análisis microbiológico del formulado.



INFORMES DE RESULTADOS

INF.LASA 12/06/2023- 5335
ORDEN DE TRABAJO N° 23-2837

DATOS DEL CLIENTE	
SOLICITANTE: [REDACTED]	DIRECCIÓN: [REDACTED]
TELÉFONO: [REDACTED]	TIPO DE MUESTRA: ALIMENTO

INFORMACIÓN SUMINISTRADA POR EL CLIENTE	
IDENTIFICACIÓN: EXTRACTO ACUOSO - PRODUCTO DE ESTUDIO FE: 17/05/2023 FV: 17/05/2025 LOTE: 2170523	PROCEDENCIA: LABORATORIO MEGAECUAFARMA

DATOS DEL LABORATORIO		
MUESTREO POR: SOLICITANTE	FECHA DE MUESTREO: -	NÚMERO DE MUESTRA: UNA (1)
FECHA DE RECEPCIÓN: 02/06/2023	FECHA DE ANÁLISIS: 02 AL 12/06/2023	FECHA DE ENTREGA: 12/06/2023
CÓD. MUESTRA: 23- 8419	REALIZACIÓN DEL ENSAYO: LABORATORIO	CÓDIGO INICIAL: M1

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

PARÁMETROS	UNIDADES	RESULTADO	INCERTIDUMBRE %U (K=2)	MÉTODO DE ENSAYO
PETRIFILM DE COLIFORMES TOTALES	UFC/ml	<10	±9.5	PEE.LASA.MB.20 AOAC 991,14 Ed 21 2019 ^a
PETRIFILM ESCHERICHIA COLI	UFC/ml	<10	±10	PEE.LASA.MB.20 AOAC 991,14 Ed 21 2019 ^a
PSEUDOMONAS AERUGINOSA.	UFC/ml	<10	N.A	SIEMBRA EN PLACA POR VERTIDO ^{b*}
RECuento EN PLACA AEROBIOS MESOFILOS	UFC/ml	<10	±9.9	PEE.LASA.MB.03 BAM Cap 3, Ed.2005 ^a
RECuento EN PLACA LEVADURAS	UFC/ml	<10	±7,6	PEE.LASA.MB.04; BAM CAP 18 Ed.2005 ^a
RECuento PLACA MOHOS	UPC/ml	<10	±8,8	PEE.LASA.MB.04; BAM CAP 18 Ed.2005 ^a
STAPHYLOCOCCUS AUREUS	UFC/ml	<10	±6	PEE.LASA.MB.06 BAM CAP 12. 2016 ^a

<10;<3 Ausencia de microorganismos

N.A: No aplica

El parámetro marcado con (a) está incluido en el alcance de acreditación de A2LA.

El parámetro marcado con (b) no está incluido en el alcance de acreditación de A2LA.

El parámetro marcado con (*) no está incluido en el alcance de acreditación de SAE.

ANEXO 5: Resultados de la cuantificación de sólidos totales.



INFORME DE RESULTADOS

INF.LASA-12-06-23-3276
ORDEN DE TRABAJO No. 23-2837

INFORMACIÓN DEL CLIENTE		
SOLICITADO POR: [REDACTED]	DIRECCIÓN: [REDACTED]	
TELÉFONO/FAX: [REDACTED]	TIPO DE MUESTRA: ALIMENTO	PROCEDENCIA: LABORATORIO MEGAECUAFARMA NATURAL
IDENTIFICACIÓN: EXTRACTO ACUOSO - PRODUCTO DE ESTUDIO FE: 17/05/2023 FV: 17/05/2025 LOTE: 2170523		CODIGO INICIAL: M1
<i>Información suministrada por el cliente</i>		
INFORMACIÓN DEL LABORATORIO		
MUESTREO POR: SOLICITANTE	FECHA DE MUESTREO: -	INGRESO AL LABORATORIO: 02/06/2023
FECHA DE ANÁLISIS: 02-12/06/2023	FECHA DE ENTREGA: 12/06/2023	NÚMERO DE MUESTRAS: Una (1)
CÓDIGO DE MUESTRA: 23-8419	REALIZACIÓN DE ENSAYOS: LABORATORIO	

ANÁLISIS FÍSICO - QUÍMICO

ITEM	PARÁMETROS	UNIDADES	RESULTADOS	INCERTIDUMBRE U (k=2)	MÉTODO DE ENSAYO
1	SÓLIDOS TOTALES	%	4,0	-	PEE.LASA.FQ.10a3 GRAVIMÉTRICO



Q.A VANESSA RENTERÍA
JEFE DE DEPARTAMENTO

ANEXO 6: Resultados experimentales de la actividad laxante para ratas normales.

RATAS NORMALES				
Tipo	No.	Salida de heces (g)	Peso seco (g)	% AF
Control	1	1,12	0,92	
	2	0,98	0,79	
	3	1,24	1,07	
	4	0,86	0,69	
	5	1,31	0,2	
	Prom	1,102	0,734	33,39
	DS	0,1844451138	0,3308020556	
Positivo	1	6,24	0,18	
	2	7,12	0,15	
	3	5,97	0,2	
	4	5,62	0,16	
	5	6,14	0,17	
	Prom	6,218	0,172	97,23
	DS	0,556614768	0,01923538406	
100 mg/kg	1	4,72	0,15	
	2	5,13	0,18	
	3	5,89	0,19	
	4	4,61	0,17	
	5	5,11	0,22	
	Prom	5,092	0,182	96,42
	DS	0,5023146424	0,02588435821	
250 mg/kg	1	6,17	0,18	
	2	6,82	0,18	
	3	5,86	0,17	
	4	5,93	0,14	
	5	6,02	0,15	
	Prom	5,995	0,164	97,07
	DS	0,1337908816	0,01816590212	
500 mg/kg	1	7,24	0,16	
	2	7,91	0,17	
	3	6,78	0,14	
	4	6,98	0,15	
	5	7,04	0,16	
	Prom	7,19	0,156	97,77
	DS	0,4346262762	0,01140175425	

ANEXO 7: Resultados experimentales de la actividad laxante para ratas constipadas.

RATAS CONSTIPADAS CON LOPERAMIDA				
Tipo	No.	Salida de heces (g)	Peso seco (g)	% AF
Control negativo	1	0,71	0,56	
	2	0,82	0,71	
	3	0,58	0,32	
	4	0,61	0,44	
	5	0,55	0,2	
	Prom	0,654	0,446	31,8
	DS	0,1105893304	0,1994492417	
Control Positivo	1	3,91	0,18	
	2	4,22	0,15	
	3	4,76	0,2	
	4	3,88	0,16	
	5	5,16	0,17	
	Prom	4,386	0,172	96,07
	DS	0,5588201857	0,01923538406	
100 mg/kg	1	2,65	0,15	
	2	2,98	0,18	
	3	1,97	0,19	
	4	1,99	0,17	
	5	2,04	0,22	
	Prom	2,326	0,182	92,18
	DS	0,4620930642	0,02588435821	
250 mg/kg	1	2,18	0,18	
	2	3,74	0,18	
	3	3,17	0,17	
	4	3,02	0,14	
	5	2,95	0,15	
	Prom	3,012	0,164	94,56
	DS	0,5592584376	0,01816590212	
500 mg/kg	1	4,01	0,16	
	2	4,14	0,17	
	3	3,97	0,14	
	4	3,81	0,15	
	5	4,22	0,16	
	Prom	4,03	0,156	96,13
	DS	0,1585875153	0,01140175425	

ANEXO 8: Anova de Dosis por grupo en ratas normales

Control Positivo-Dosis 1

Tabla ANOVA para DOSIS por GRUPO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3,16969	1	3,16969	11,28	0,0100
Intra grupos	2,24856	8	0,28107		
Total (Corr.)	5,41825	9			

Control Positivo-Dosis 2

Tabla ANOVA para DOSIS por GRUPO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,00841	1	0,00841	0,04	0,8530
Intra grupos	1,83748	8	0,229685		
Total (Corr.)	1,84589	9			

Control Positivo-Dosis 3

Tabla ANOVA para DOSIS por GRUPO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2,36196	1	2,36196	9,47	0,0152
Intra grupos	1,99488	8	0,24936		
Total (Corr.)	4,35684	9			

Dosis 1 - Dosis 2

Tabla ANOVA para DOSIS por GRUPO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2,85156	1	2,85156	14,19	0,0055
Intra grupos	1,60748	8	0,200935		
Total (Corr.)	4,45904	9			

Dosis 1 - Dosis 3

Tabla ANOVA para DOSIS por GRUPO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	11,004	1	11,004	49,88	0,0001
Intra grupos	1,76488	8	0,22061		
Total (Corr.)	12,7689	9			

Dosis 2 - Dosis 3

Tabla ANOVA para DOSIS por GRUPO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2,65225	1	2,65225	15,67	0,0042
Intra grupos	1,3538	8	0,169225		
Total (Corr.)	4,00605	9			

ANEXO 9: Anova de Dosis por grupo en ratas constipadas

Control Positivo-Dosis 1

Tabla ANOVA para DOSIS por GRUPO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	10,609	1	10,609	40,35	0,0002
Intra grupos	2,10324	8	0,262905		
Total (Corr.)	12,7122	9			

Control Positivo- Dosis 2

Tabla ANOVA para DOSIS por GRUPO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	4,71969	1	4,71969	15,10	0,0046
Intra grupos	2,5002	8	0,312525		
Total (Corr.)	7,21989	9			

Control Positivo-Dosis 3

Tabla ANOVA para DOSIS por GRUPO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,31684	1	0,31684	1,88	0,2078
Intra grupos	1,34972	8	0,168715		
Total (Corr.)	1,66656	9			

Control Positivo - Dosis 2

Tabla ANOVA para Masa fecal por Dosis

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1,17649	1	1,17649	4,47	0,0674
Intra grupos	2,1052	8	0,26315		
Total (Corr.)	3,28169	9			

Dosis 1 - Dosis 3

Tabla ANOVA para Masa fecal por Dosis

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	7,25904	1	7,25904	60,83	0,0001
Intra grupos	0,95472	8	0,11934		
Total (Corr.)	8,21376	9			

Dosis 2 - Dosis 3

Tabla ANOVA para Masa fecal por Dosis

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2,59081	1	2,59081	15,33	0,0044
Intra grupos	1,35168	8	0,16896		
Total (Corr.)	3,94249	9			